

Année scolaire
1948-1949

THÈSES

N° 60

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Raymond QUILICHINI

LICENCIÉ ÈS SCIENCES.

DIPLOMÉ D'ÉTUDES SUPÉRIEURES.

PHARMACIEN.

1^{re} Thèse. — CONTRIBUTION A L'ÉVOLUTION CYTOLOGIQUE ET
CHIMIQUE DE QUELQUES GRAINES DE LÉGUMINEUSES.

2^e Thèse. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le Mardi 17 Mai 1949, devant la Commission d'examen.

Président M. P. DANGEARD, professeur.

Examineurs... { MM. R. DAVID, professeur.
R. GAY, professeur.

BORDEAUX

IMPRIMERIE E. DROUILLARD

3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1952

Année scolaire
1948-1949

THÈSES

N° 60

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Raymond QUILICHINI

LICENCIÉ ÈS SCIENCES.

DIPLOMÉ D'ÉTUDES SUPÉRIEURES.

PHARMACIEN.

—•—

1^{re} Thèse. — CONTRIBUTION A L'ÉVOLUTION CYTOLOGIQUE ET
CHIMIQUE DE QUELQUES GRAINES DE LÉGUMINEUSES.

2^e Thèse. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le Mardi 17 Mai 1949, devant la Commission d'examen.

—

Président M. P. DANGEARD, professeur.

Examineurs { MM. R. DAVID, professeur.
R. GAY, professeur.

—♦—

BORDEAUX

IMPRIMERIE E. DROUILLARD

3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

—
1952

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DES SCIENCES

	MM.
<i>Doyen</i>	BRUS
<i>Doyens honoraires..</i> {	PADÉ Recteur honoraire de l'Académie d'Aix. PICART Membre de l'Institut. DUPONT Directeur de l'Ecole Normale supérieure. CHAINE MERCIER
<i>Professeurs hono- raires</i>	{ PADÉ Recteur honoraire de l'Académie d'Aix. BOUNHIOL DEVAUX Membre de l'Institut. DUPONT Directeur de l'Ecole Normale supérieure. PICART Membre de l'Institut. DAURE Recteur de l'Académie de Caen. CHAINE KASTLER Professeur à la Sorbonne. QUELET Professeur à la Sorbonne.
<i>Professeurs</i>	{ MERCIER Radio-électricité. MILLOUX Calcul infinitésimal. DANGEARD Botanique. GÉNEVOIS Chimie biologique et Physiologie végétale. CAU Physique expérimentale. BRUS Chimie. AVEL Zoologie et Physiologie animale. MONDAIN-MONVAL Chimie minérale et Chimie physique. ROUSSET Physique générale. ROGER Mécanique rationnelle. WEILL Anatomie comparée et Embryogénie. SERVANT Physique. DUFRESNOY Mathématiques générales. BOUNHIOL Biologie animale. N Chimie organique. N Géologie.
<i>Professeurs sans chaire</i>	{ DAVID Biologie végétale. SCHOELLER Géologie. PISOT Calcul des probabilités. GAY Minéralogie.
<i>Maîtres de confé- rences honoraires.</i> {	ARRIVAUT DE PUYMALY
<i>Maîtres de confé- rences</i>	{ ALLARD Chimie. GUIZONNIER Physique. N Mathématiques.
<i>Chargé de suppl^{ce}...</i> {	RIBEREAU-GAYON Chimie biologique et Physiologie végétale.
<i>Secrétaire</i>	ARTIGUELONG

CONTRIBUTION

A

L'ÉVOLUTION CYTOLOGIQUE ET CHIMIQUE
DE QUELQUES GRAINES DE LÉGUMINEUSES



AVANT-PROPOS

Ce travail a pour étude l'évolution cytologique et chimique des constituants de quelques graines de Légumineuses : Vacuome, Plastidome, Chondriome et Huile; le noyau a été laissé de côté pendant toutes nos recherches. Cette étude, qui comprend deux parties, une cytologique, l'autre chimique, peut, à première vue, paraître hétérogène, nous verrons cependant que ces deux parties se complètent dans de nombreux cas.

Nous avons ainsi essayé de mettre en pratique un des conseils que le Professeur P. Dangeard donnait aux Cytologistes, dans ses « Recherches de Biologie cellulaire » (1293) : « La chimie végétale ne peut non plus laisser indifférent un cytologiste. Il est intéressant de soumettre à l'analyse une plante entière ou quelques-uns de ses organes, mais il n'est pas négligeable de pouvoir déceler les substances au moment de leur apparition dans la cellule elle-même, c'est pourquoi il serait intéressant que le cytologiste fût en même temps un chimiste. »

Nos recherches cytologiques ont été effectuées au Laboratoire de Botanique générale de la Faculté des Sciences de Bordeaux, pendant les années 1944, 1945, 1946, 1947, 1948.

Avant d'entrer dans les détails de cette étude, c'est pour nous un agréable devoir d'exprimer ici à notre Maître, le Professeur P. Dangeard, Directeur de ce Laboratoire, notre profonde reconnaissance; celui-ci, en effet, après nous avoir accueilli avec bienveillance, a bien voulu nous confier ce travail et n'a cessé de nous prodiguer ses conseils éclairés grâce auxquels il nous a été permis de mener à bonne fin cette étude.

Nous tenons aussi à remercier M. Malvesin-Fabre, Chef de Travaux, et M. Eymé, Assistant, qui nous ont donné de précieuses indications et nous ont facilité la réalisation pratique de nos recherches.

M. Larroque, Jardinier-Chef du Jardin Botanique Municipal de Bordeaux, s'est mis à tout moment à notre entière disposition pour la récolte de notre matériel; notre reconnaissance lui est acquise.

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui ont facilité notre tâche : MM. Babin, Buffe et Creac'h, Pharmaciens-Chimistes de la Marine et des Troupes Coloniales, qui ont été nos Professeurs à l'Ecole de Santé Navale; M. le Professeur Teyeau, qui nous permit de faire des analyses chimiques dans son Laboratoire de Chimie Biologique à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux.

CONTRIBUTION A L'ÉVOLUTION CYTOLOGIQUE ET CHIMIQUE DE QUELQUES GRAINES DE LÉGUMINEUSES

INTRODUCTION

Il est classique aujourd'hui de considérer les grains d'aleurone comme les vacuoles desséchées des graines et de les faire provenir de vacuoles des jeunes embryons ou des jeunes albumens qui, pendant la maturation, ont accumulé des substances azotées de réserve et se sont progressivement déshydratées.

Cette manière de voir, que l'on pouvait croire définitivement acceptée par les cytologistes et les botanistes à la suite des travaux de P. DANGEARD, en 1923, et de GUILLIERMOND, fut remise en question en 1943, dans les travaux d'un auteur allemand, WIELER. Cet auteur, étudiant différentes graines de Légumineuses et de Graminées, s'éleva contre la théorie vacuolaire de l'origine de l'aleurone et il attribua à cette substance une origine protoplasmique.

Ce travail, avec ses conclusions assez inattendues, fut l'occasion de nouvelles recherches que P. DANGEARD (1944) entreprit, en prenant comme matériel des graines de Légumineuses, telles que les Lupins, le Soja, le Pois, la Fève et le Haricot; il nous confia plus particulièrement l'étude du Soja. Il nous conseilla par la suite d'étendre cette étude à d'autres graines de Légumineuses prises dans les trois sous-familles.

En écoutant son avis, il nous sembla utile d'étudier non seulement l'aleurone, mais aussi les constituants cellulaires

voisins qui, dans ces graines, n'avaient fait l'objet d'aucune recherche.

P. DANGEARD nous encouragea à faire, parallèlement à cette étude cytologique, une étude chimique des réserves de ces graines.

C'est ainsi que prit corps notre travail, et nous essaierons ensuite de rapprocher les deux études, cytologique et chimique; ce rapprochement est assurément très délicat à réaliser et, cependant, il nous a paru nécessaire pour essayer d'expliquer certains faits; ce sera ainsi un des premiers essais réalisés dans ce sens.

Les graines de Légumineuses que nous avons étudiées sont les suivantes :

1° Sous-famille des Papilionacées :

Cytisus alpinus MILL.

Dorycnium suffruticosum VILL.

Soja hispida MOENCH.

2° Sous-famille des Cæsalpiniées :

Cercis siliquastrum L.

3° Sous-famille des Mimosées :

Acacia dealbata LINK.

Albizzia julibrissin DUR.

PREMIÈRE PARTIE

ÉTUDE CYTOLOGIQUE

HISTORIQUE

ALEURONE

Les réserves azotées des graines sont constituées par les grains d'aleurone; ces éléments sont aujourd'hui très connus au point de vue chimique, et de nombreux travaux ont été faits sur les semences utilisées dans l'alimentation, telles que Haricot, Fève, Pois, Soja, etc.; c'est ainsi que, dans le Soja, l'aleurone serait formé d'albumines et surtout de globulines complexes appelées « Glycinine » ou, mieux, « caséine », car leur composition se rapproche de celle de la caséine animale; les acides aminés constituant cette glycinine ont pu être mis en évidence dans une hydrolyse par OSBORNE et CLAPP, selon la méthode de KESSEL et KUTSCHER, puis par BREESE JONES et H. G. WATERMANN, selon la méthode de VAN SLYKE; on a pu ainsi obtenir : l'arginine, la cystine, l'histidine, la lysine, la tyrosine, le tryptophane, ces deux dernières sous forme de traces.

Toutefois, si la constitution de l'aleurone est actuellement bien établie dans les graines, elle a un caractère assez récent car son établissement est lié aux progrès de la chimie.

Ce sont les Botanistes qui, les premiers, il y a près d'un siècle, ont posé le problème de l'aleurone; ils l'ont décrit dans de nombreuses graines et ont essayé de déterminer sa nature et son origine dans le cadre de la cellule.

La découverte de l'aleurone est due à HARTIG (1855) qui lui donna le nom d'aleurone ou de « colle végétale »; HOLLE lui appliqua ensuite le nom de matière albuminoïdique; ces auteurs décrivirent les grains qu'elle formait, cherchèrent à élucider sa nature, mais ils ne s'occupèrent pas de son origine intime dans la cellule.

SACHS et GRIS (1860) démontrèrent que l'aleurone ne contenait pas d'huile et que cette dernière constituait, à côté de l'amidon, un autre principe non azoté; GRIS, toutefois, signala que l'aleurone devait prendre naissance dans des vacuoles particulières.

C'est à PFEFFER que revient le mérite d'avoir démontré la nature purement protéique des grains d'aleurone; cet auteur, dans un gros mémoire (1872), décrivit l'aleurone dans de nombreuses graines, et le considéra comme un dépôt direct de substances protéiques à l'intérieur du cytoplasme; cette origine « plasmique » put paraître à cette époque acceptable, car la distinction entre suc cellulaire et protoplasme n'était pas encore bien établie.

En 1888, WAKKER fut le premier à soutenir pour les grains d'aleurone une origine vacuolaire; WERMINSKI, à la même époque, arriva aux mêmes conclusions : les grains d'aleurone proviennent de vacuoles qui, dans la jeune graine, se divisent et se remplissent peu à peu de substances albuminoïdiques; celles-ci finissent par les combler complètement par suite du départ de l'eau au moment de la dessiccation.

A la même époque, RENDLE (1888) étudiait les grains d'aleurone d'une Légumineuse papilionacée : *Lupinus digitatus*; d'après lui : « Les grains d'aleurone du *Lupinus digitatus* se déposent directement dans le protoplasme lorsque l'embryon a achevé de remplir le sac embryonnaire; d'abord convexes puis arrondis, ils grandissent peu à peu en restant en rapport avec le protoplasme; l'eau ne les altère pas; quand la période de maturation approche, ils prennent l'apparence de corpuscules vacuolaires, limités par une paroi plus dense ».

C'était donc revenir à l'origine protoplasmique soutenue par PFEFFER.

Dans la même année, une idée toute nouvelle fut énoncée par VAN TIEGHEM, sur l'origine et le rôle des grains d'aleurone; pour cet auteur, les vacuoles ne sont pas de simples réservoirs, des interstices protoplasmiques où s'accumulent les produits du métabolisme cellulaire, ce sont des parties vivantes de la cellule, des hydroleucites; les grains d'aleurone sont des hydroleucites qui ont élaboré à leur intérieur des matières albuminoïdes. Cette opinion semblerait, à premier examen, se rapprocher de la théorie de WAKKER, mais en réalité elle s'en

éloigne en raison du rôle actif que l'auteur donne aux vacuoles et de la présence d'une membrane qui leur est propre.

En 1890, F. LUDTKE, étudiant l'aleurone de *Ricinus communis* et de *Linum usitatissimum*, pensait démontrer, comme PFEFFER, que les globoïdes et les cristalloïdes se formaient directement dans le contenu protoplasmique et non dans des vacuoles spéciales.

En 1900, BELZUNG émit une théorie qui eut un grand succès, car elle semblait élucider le problème de l'origine de l'aleurone; ses résultats étaient satisfaisants pour les partisans de l'origine vacuolaire comme pour ceux de l'origine protoplasmique; selon la catégorie à laquelle appartient l'aleurone, il distingue en effet deux origines :

1° Les grains d'aleurone à inclusions naîtraient dans des vésicules protoplasmiques ou hydroleucites; tout d'abord, cristalloïdes et globoïdes apparaîtraient, puis le suc des vésicules se chargerait peu à peu de matières protéiques élaborées par la membrane des vésicules, en même temps qu'il s'alcaliniserait; au moment du dessèchement de la graine, le suc perdrait peu à peu son eau, la matière protéique se concrétiserait en englobant cristalloïdes et globoïdes et formerait les grains d'aleurone.

2° Les grains d'aleurone sans inclusions des Légumineuses, au contraire, « naîtraient à la périphérie des cellules, dans le protoplasme, sous forme de petits grains pleins et homogènes ». Ces grains, par la suite, grossiraient en se creusant d'une ou de plusieurs vacuoles, prenant un aspect de réseau régulier ou irrégulier qui se remplirait plus ou moins complètement d'une substance albuminoïdique en fin de maturation.

Dans le premier cas, l'aleurone aurait une origine vacuolaire un peu spéciale, puisque l'auteur donne à la membrane de l'hydroleucite un rôle actif; dans le deuxième cas, l'aleurone naîtrait directement dans le protoplasme.

L'origine de l'aleurone semblait, cependant, ne pas être établie encore d'une manière indiscutable. Il faudra attendre les travaux de P. A. DANGEARD (1916) sur les colorations vitales, ceux de P. DANGEARD (1920-1923) sur l'étude vitale de l'aleurone avec ou sans colorant, et ceux de GUILLIERMOND (1922), pour que ce problème trouve une solution admise par l'ensemble des Cytologistes,

LES COLORATIONS VITALES

La coloration vitale met en œuvre la propriété qu'ont certains colorants de pénétrer dans les cellules vivantes sans les perturber, et de colorer certaines enclaves cellulaires.

Des essais furent effectués dans le règne animal et le règne végétal. La première coloration fut réalisée sur des infusoires, par BRANDT, CERTES et HENNEGUY (1881-1882); ce fut PFEFFER (1886) qui la mit au point en colorant des cellules de diverses plantes telles que *Azolla*, *Lemna*, *Spirogyra*...

Cette coloration fut ensuite pratiquée dans la série animale, par de nombreux chercheurs : ARNOLD (1900), MICHAELIS, LAGUESSE (1912), FAURE FREMIET (1908), LEVI et les LEWIS (1913), etc.

Dans le règne végétal, si l'on met à part le travail de base de PFEFFER, on ne trouve que des études isolées, telles que celles de LAUTERBORN, CRATO et RACIBORSKI.

L'explication de la coloration vitale, la spécificité de son action, son extension à toutes les cellules devaient être le fruit des travaux de P. A. DANGEARD (1916), P. DANGEARD, GUILLIERMOND.

SPÉCIFICITÉ DE L'ACTION DES COLORANTS VITAUX

Dans les cellules animales, on a pu colorer vitalement le noyau, les substances de réserves, les mitochondries, les vacuoles et même le cytoplasme.

On étudia plus particulièrement les mitochondries en utilisant des colorants vitaux tels que violet de méthyle, vert Janus, violet de Dahlia. Tous les auteurs furent cependant unanimes à reconnaître que la coloration vitale réussissait d'autant mieux que les éléments colorés faisaient partie du paraplasme; PFEFFER constata que le bleu de méthylène à la concentration de 1 p. 1.000 colorait uniquement les vacuoles chez divers végétaux tels que les *Spirogyra*, les frondes de *Lemna* et les feuilles d'*Elodée*, en y précipitant les matières tannoïdes qui se combineraient avec le colorant; il remarqua que les vacuoles étaient plus colorées que la solution elle-même, ce qui lui fit dire qu'elles pouvaient accumuler le colorant.

En 1907-1908, GUILLIERMOND mit en évidence dans la plupart des vacuoles des Champignons, des granulations : les corpuscules métachromatiques, qui avaient la propriété de fixer les colorants vitaux; il observa aussi que les grains d'aleurone de certaines Graminées pouvaient se colorer vitalement par le rouge neutre en laissant incolore les inclusions qu'ils contenaient.

Par la suite, P. A. DANGEARD démontra que les corpuscules métachromatiques des Champignons, décrits par GUILLIERMOND, n'existaient pas dans la plupart des cellules observées sans l'emploi de colorants, et qu'ils provenaient de la précipitation, sous l'action des colorants

vitaux ou des fixateurs, d'une substance en solution colloïdale dans les vacuoles, qu'il appela métachromatine. Cet auteur étudia la coloration vitale des cellules d'un très grand nombre de plantes, il utilisa surtout comme colorants : le bleu de crésyl, le bleu de méthylène, le vert Janus; dans tous les cas, il constata la présence dans les vacuoles d'une substance colloïdale que le colorant vital fait flocculer sous la forme de corpuscules sphériques. P. A. DANGEARD en déduisit l'analogie de cette substance avec la métachromatine des Champignons. Il établit que toute vacuole contient en solution colloïdale une substance, la métachromatine, possédant une forte affinité pour les colorants vitaux (qui d'ailleurs la font flocculer), et que toute vacuole peut être colorée vitalement.

P. DANGEARD fit ensuite le point sur la spécificité des colorants vitaux (1923), comme il l'exprime : « En dehors de la coloration de l'appareil vacuolaire, on ne peut signaler chez les Végétaux que celle des granulations du cytoplasme par PFEFFER et celle des mitochondries des Champignons par GUILLIERMOND, au moyen de violet de Dahlia. Cette dernière est signalée comme étant très difficile à réaliser et comme très imparfaite ».

Les colorations vitales allaient permettre d'explorer le domaine des vacuoles, que P. A. DANGEARD unifia sous le nom de vacuome. Cet auteur et P. DANGEARD décrivirent le système vacuolaire chez les cellules embryonnaires; son étude était en effet très difficile en raison de sa ressemblance morphologique avec d'autres éléments cellulaires, en particulier les mitochondries; sa coloration vitale permit son observation.

Le problème de l'origine de l'aleurone dans les graines, qui était resté à peu près stationnaire depuis les travaux de BELZUNG, était repris vers 1920 par P. DANGEARD.

Entre temps, en effet, aucun auteur n'avait entrepris une étude approfondie de l'aleurone à l'aide des colorants vitaux; en 1908, BEAUVÉRIE pensait avoir obtenu une coloration vitale chez le Ricin et la Courge, mais il avait souligné sa difficulté et il précisait qu'il fallait écraser la préparation afin de séparer nettement les grains d'aleurone. GUILLIERMOND (1908) avait fait quelques observations vitales de l'aleurone des Graminées, mais ce n'étaient que des observations peu poussées; la coloration vitale était elle-même douteuse puisque dans les travaux de BEAUVÉRIE il était nécessaire d'écraser les cellules pour l'obtenir.

P. DANGEARD (1920) entreprit une étude systématique de l'aleurone chez les Gymnospermes, le Ricin et les Graminées; il démontra, à l'aide de colorants vitaux (rouge neutre et

bleu de crésyl) et de méthodes de fixations suivies de coloration, l'origine vacuolaire des grains d'aleurone et leur transformation en vacuoles pendant la germination; il prouva aussi que les vacuoles de la jeune plantule provenaient de la transformation des grains d'aleurone. Cette étude rendait caduque la théorie de l'origine protoplasmique de l'aleurone, et elle rendait improbable le mode de naissance des vacuoles par néoformation.

A la même époque, GUILLIERMOND commença des recherches sur l'albumen du Ricin en utilisant surtout la méthode des fixations et en étudiant plus particulièrement le chondriome; les résultats qu'il obtint au sujet de l'aleurone sont une confirmation, en somme, des travaux de P. DANGEARD. Il revient à ce dernier d'avoir démontré, à l'aide d'arguments nouveaux, l'origine vacuolaire de l'aleurone.

La théorie de l'origine vacuolaire de l'aleurone devint alors classique; la plupart des auteurs semblèrent l'avoir admise; cependant, D. M. MOTTIER (1921), étudiant l'aleurone du Maïs et du Ricin pendant la maturation, soutint encore, à cette époque, que les grains d'aleurone du Ricin prenaient naissance dans de petits « primordia » granuleux qui augmentent de volume, fusionnent et s'accumulent dans les vacuoles; l'aleurone naîtrait ainsi dans des plastes spéciaux. On s'orientait à nouveau avec lui vers une origine « plasmique ».

Quelques années plus tard, VOUK (1925) se ralliait à une manière de voir assez semblable. Ces dernières hypothèses avaient un point faible : c'était d'être basées sur des observations de coupes fixées. Il fut très aisé pour P. DANGEARD et GUILLIERMOND de les critiquer et de faire triompher leurs vues sur l'origine vacuolaire de l'aleurone.

Récemment, en 1943, la nature et l'origine de l'aleurone furent cependant remises en question par les travaux d'un cytologiste allemand, WIELER. Celui-ci, dans son travail : « Der Feinere Bau der Aleuronkörner und ihre Entstehung », étudia l'origine des grains d'aleurone du Lupin, du Haricot et de quelques Graminées. Selon lui, les grains d'aleurone apparaissent très précocement et non pas juste avant la maturation; comme il l'écrit : « Les grains d'aleurone apparaissent tantôt dans le voisinage du noyau, tantôt dans le plasma pariétal et non pas dans une vacuole ». Ainsi, WIELER nie l'ori-

gine vacuolaire des grains d'aleurone, mettant en doute les travaux de P. DANGEARD, auxquels il se réfère dans son étude; selon lui, l'aleurone apparaîtrait de bonne heure dans le protoplasme et proviendrait de précipitations. Enfin, l'auteur attache une certaine importance à la structure soi-disant ponctuée des grains d'aleurone.

A la suite des travaux de WIELER, P. DANGEARD (1944) reprit ses travaux sur l'aleurone; il étudia le Haricot, le Pois, la Fève, le Soja et divers Lupins par la méthode vitale avec emploi ou non de colorants et par la méthode des colorations après fixation; il observa la transformation des vacuoles pendant la maturation; leur enrichissement, en même temps que leur diminution en volume, font que leur contenu tend à précipiter sous la forme de globules variés, et c'est, d'après lui, cette instabilité du contenu colloïdal qui a pu faire croire à une formation *de novo* de l'aleurone dans le protoplasme. Il conclut que si, dans certaines graines, comme le Pois, la Fève, le Haricot, les grains d'aleurone apparaissent tardivement par suite de la lente déshydratation des vacuoles, au contraire, dans le Soja et dans le Lupin, la graine se déshydrate de bonne heure; aussi, les précipités apparaissent très précocement et peuvent, sous diverses influences (fixateurs et colorants), se déplacer et être une cause possible d'erreur d'interprétation.

PLASTIDOME ET CHONDRIOME

La cellule végétale contient dans son cytoplasme deux sortes de petits organites que l'observation vitale et les coupes fixées et colorées permettent de bien décrire.

Ce sont tout d'abord les plastes dont l'ensemble forme le plastidome; ces petits éléments ont des formes diverses selon la cellule étudiée; durant la vie d'une cellule déterminée, ils prennent des formes variables; en effet, ils ont un rôle actif dans le métabolisme cellulaire, car ils peuvent accumuler des pigments, tels que la chlorophylle ou de l'amidon, quelquefois les deux ensemble; les plastes sans fonction apparente sont appelés leucoplastes, les autres, chloroplastes, amyloplastes et amylochloroplastes.

A côté de ces éléments, d'autres sont plus difficilement

observables en raison de leur taille minime et de leur très grande fragilité; ils constituent les mitochondries dont l'ensemble est appelé chondriome. Ce sont de très fines granulations ou de fins bâtonnets, quelquefois flexueux, pouvant prendre une allure filamenteuse; on leur donne aussi le nom de chondriosomes. Les mitochondries filamenteuses ont été plus spécialement appelées chondriocoques. Ils n'ont pas de rôle apparemment actif, car ils sont incapables d'accumuler de l'amidon ou de la chlorophylle; ainsi, ils s'éloignent des plastes par leur incapacité de pouvoir évoluer au cours de la vie de la cellule.

Les travaux de P. A. DANGEARD et P. DANGEARD, en particulier, ont abouti à montrer que ces deux sortes d'éléments forment dans la cellule deux appareils distincts l'un de l'autre dès leur origine; leur étude a porté sur des plantes les plus diverses, choisies aussi bien parmi les Cryptogames que parmi les Phanérogames; dans les cellules méristématiques, ces auteurs ont montré l'existence de ces deux sortes d'éléments. Les plastes y sont généralement petits et incolores, et ils possèdent en eux une énergie potentielle puisque plus tard ils accumuleront de la chlorophylle et de l'amidon et joueront ainsi un rôle actif dans le métabolisme cellulaire. Les mitochondries sont aussi présentes dès l'origine des tissus; à l'état granuleux, elles se distinguent parfois difficilement des plastes, mais les formes en bâtonnets et les formes filamenteuses y sont le plus souvent très nettes; ce chondriome, déjà différent du plastidome par sa morphologie, se distingue encore mieux par son incapacité de pouvoir se transformer par la suite, donc de pouvoir évoluer comme le fait le plastidome; plus récemment, P. DANGEARD (1941-1942) a pu le faire apparaître *de novo* dans le cytoplasme, à la suite d'une destruction expérimentale; il apparaît ainsi que les mitochondries ont une certaine ressemblance avec des éléments du paraplasme.

Cette manière de voir concernant les relations entre plastes et chondriosomes est toujours discutée. C'est ainsi que GUILLIERMOND et ses collaborateurs lui ont opposé la théorie de la dualité du chondriome; d'après ces auteurs, plastidome et chondriome ne peuvent être séparés : plastes et mitochondries ont la même origine, et dans les tissus en formation il n'existe

qu'une espèce d'élément : les mitochondries; certaines d'entre elles, dites actives, pourraient accumuler de l'amidon et de la chlorophylle; d'autres, dites inactives, seraient apparemment incapables de jouer un rôle dans une synthèse. D'autre part, lorsque l'amidon et la chlorophylle seraient résorbés, le plaste pourrait régénérer la mitochondrie, cette dernière pourrait plus tard redevenir active et fonctionner de la même manière. Ainsi, pour ces auteurs, ces deux éléments auraient une origine commune, mais deux évolutions différentes, et les plastes dériveraient des mitochondries.

L'étude des rapports du plastidome et du chondriome chez les Phanérogames est plus délicate à interpréter que chez les Cryptogames, en raison des différences morphologiques moins marquées; c'est ainsi que les graines ont fait l'objet de peu de travaux; nous noterons cependant ceux de GUILLIERMOND (1921) et de P. DANGEARD (1938) sur l'albumen du Ricin. Chez les graines de Légumineuses, à part les travaux de LI KOUÉ TCHANG (1924) sur le Pois et le Haricot, et ceux de E. SOMON (1945) sur le Haricot et le Cytise, une seule étude très complète a été faite par P. DANGEARD (1945) sur les Lupins, le Pois, la Fève, le Haricot et le Soja.

AMYLOGENÈSE. — AMYLOLYSE

L'amylogenèse et l'amylolyse dans les graines ont été décrites très souvent par les auteurs; ce qu'il faut tirer de leurs travaux, c'est que l'amidon se forme d'emblée dans les plastes à partir des sucres solubles nés de l'assimilation chlorophyllienne; cette affirmation relève soit de la cytologie, soit de la physiologie.

En effet, en cytologie, il existe un seul réactif permettant de déceler l'amidon, c'est l'eau iodo-iodurée; l'amidon prend à son contact une coloration bleue violacée caractéristique; la généralité des auteurs n'a pas saisi, à l'aide de ce réactif, de stades intermédiaires entre l'amidon et les sucres solubles. Cependant, MAIGE (1924) a pu mettre en évidence avec ce réactif des stades intermédiaires, du type dextrines, qui donnent, au contact de l'iode, diverses colorations selon leur degré de polymérisation; cet auteur a même pu reproduire, au ralenti, ces stades, en cultivant des embryons de Haricot

sur gélose à 5 p. 100. Ces observations ont été critiquées par REILHES (1931) et par BADENHUIZEN (1939) ; pour REILHES, les diverses colorations (jaune, rouge, violet plus ou moins foncé) que MAIGE a obtenues seraient dues aux concentrations plus ou moins élevées des solutions iodées ; l'amidon se colorerait en bleu, puis en violet, puis en rouge, suivant que les solutions seraient de plus en plus concentrées en iode.

Les chimistes, de leur côté, en particulier H. COLIN et ses collaborateurs, n'ont jamais pu déceler de dextrines ; il faut excepter toutefois Michel DURAND (1918) qui en signala des traces chez le Haricot.

HUILE

L'huile, produit du métabolisme cellulaire, se dépose au sein du cytoplasme sous la forme de petites gouttelettes réfringentes ; dans les graines, elle est souvent très abondante et forme alors de très nombreuses gouttelettes qui remplissent presque complètement les cellules ; c'est le cas des graines oléagineuses ; dans les autres graines, elle existe toutefois, mais ce sont surtout les réserves amylacées ou azotées qui dominent.

Sa formation pendant la maturation et sa disparition lors de la germination ont été suivies dans de nombreuses graines, mais plus particulièrement dans les graines oléagineuses, c'est-à-dire dans les graines dont l'huile est la principale réserve, l'huile se formant dans ces dernières, surtout en fin de maturation, au moment de leur dessèchement, on en a déduit qu'il en était ainsi pour toutes les graines.

TECHNIQUE

TECHNIQUES EXTEMPORANÉES VITALES ET POSTVITALES

A. — L'OBSERVATION VITALE

Elle consiste à placer l'élément de tissu fraîchement disséqué dans une goutte d'eau entre lame et lamelle : c'est la meilleure observation microscopique que l'on puisse faire, car elle permet d'étudier des éléments à la fois vivants et dont la morphologie externe et interne n'a pas été perturbée.

Les cellules épidermiques, en particulier, sont un très bon matériel pour une étude vitale; en effet, en pratiquant une coupe tangentielle à la surface de l'épiderme, elles ne sont pas lésées par le rasoir et peuvent ainsi être observées vitalement.

De même, un embryon à peine formé de quelques rangées de cellules et généralement très aqueux, peut, sans être coupé, être observé vitalement entre lame et lamelle.

Il n'en est pas ainsi pour les cellules parenchymateuses; leur étude nécessite des coupes; celles-ci sont formées de cellules généralement atteintes par le rasoir, donc mortes ou en voie de l'être; sur le nombre, quelques cellules sont encore intactes et permettent une bonne observation.

B. — COLORATION VITALE

Nous avons utilisé le rouge neutre en solution dans l'eau distillée. Nous savons que le colorant utilisé à certaines concentrations, colore électivement le vacuome des cellules vivantes; c'est donc un test de vitalité des cellules, puisque si

la cellule meurt, le rouge neutre colore le noyau et envahit le protoplasme.

Ce colorant, le moins toxique de tous les colorants vitaux, nous permet de suivre dans les meilleures conditions l'évolution du vacuome.

Ces deux techniques se complètent, nous les avons utilisées simultanément. Elles forment la principale base de notre travail.

C. — COLORATION DE L'AMIDON

Nous nous sommes servi d'une solution iodo-iodurée qui colore les grains d'amidon en bleu violacé.

La concentration de la solution en iode a été variable au cours de notre étude; néanmoins, la plus utilisée a été la suivante :

Iode	1 g.
Iodure de potassium	4 g.
Eau distillée	q. s. p. 300 cm ³

Des solutions d'iode à 1, 5 et 10 p. 1.000 ont été préparées.

D. — COLORATION DE L'HUILE

La grande réfringence des gouttelettes lipidiques nous a très souvent aidé à les observer; nous les avons colorées à l'aide du rouge Soudan et de l'acide osmique.

a) *Coloration au rouge Soudan.* — L'élément de tissu est traité successivement par les réactifs suivants :

Alcool à 70° quelques minutes.

Solution saturée de rouge Soudan dans
l'alcool à 95° 25 à 30 minutes.

(Recouvrir le bain d'un verre de
montre pour éviter l'évaporation de
l'alcool.)

Alcool à 70° 1 à 2 minutes.

Eau lavage rapide.

Un montage à la glycérine sera réalisé.

Le passage dans le premier alcool à 70° est nécessaire, car le colorant, insoluble dans l'eau, forme, au contact des tissus, des globules colorés en orangé que l'on peut très facilement confondre avec de l'huile colorée.

Le lavage dans l'alcool à 70° permet d'éliminer l'excès de colorant, mais ne doit pas être prolongé, car les lipides seraient rapidement décolorés.

Nous avons quelquefois effectué une double coloration de l'huile et de l'amidon, en colorant extemporanément la préparation ainsi faite avec une solution diluée d'iode, après lui avoir fait subir un lavage soigné à l'eau.

b) *Coloration à l'acide osmique.* — L'acide osmique est réduit à l'état d'osmium métallique noir au niveau de l'huile.

Le réactif utilisé est le suivant :

Acide osmique 2 g.

Solution aqueuse d'acide chromique à 1 p. 100. 100 g.

La coloration est souvent très délicate à interpréter, car l'acide osmique est plus ou moins réduit au niveau du protoplasme et de ses diverses inclusions.

TECHNIQUE DES FIXATIONS SUIVIES DE COLORATIONS

Elle complète l'étude extemporanée, vitale et postvitale, et nous a permis, grâce à un choix sélectif de fixateurs, et par comparaison des différentes fixations obtenues, de suivre efficacement l'évolution du vacuome, du plastidome et du chondriome dans le matériel choisi.

A. — FIXATEURS

1° *Liquide de Regaud.* — Sa formule est la suivante :

Bichromate de potassium à 3 p. 100 4 parties.

Formol à 30 p. 100 1 partie.

Il y a intérêt à neutraliser préalablement la solution de formol, car des traces d'acide formique, formées par oxydation naturelle, y sont toujours présentes.

Le mélange se fait au moment de l'emploi.

Le temps de fixation est de trois à quatre jours; quand le mélange brunit on peut le renouveler.

On termine en lavant à l'eau courante pendant vingt-quatre heures.

Pour l'étude du chondriome, le matériel est postchromisé après fixation pendant huit à dix jours dans une solution de bichromate de potassium à 3 p. 100 puis lavé à l'eau courante pendant vingt-quatre heures.

2° *Liquide de Tupa.* — Celui que nous avons utilisé a la formule suivante :

Liquide de REGAUD	100 parties.
Nitrate d'uranium cristallisé	1 partie.

Le matériel est fixé dans ce mélange pendant vingt-quatre heures, puis lavé à l'eau courante pendant le même temps.

Ce liquide donne de bons résultats pour l'observation du chondriome; de plus, il est rapidement utilisable, car il permet d'éviter le temps de postchromisation.

3° *Liquide de Helly :*

Bichlorure de mercure	5 » g.
Bichromate de potassium	2,5 g.
Sulfate de sodium	1 » g.
Eau distillée	100 cm ³

Au moment de l'emploi, on ajoute 10 cm³ de formol. La fixation dure vingt-quatre heures et est suivie d'un lavage à l'eau.

La déshydratation du matériel est précédée d'un passage dans de l'alcool iodé afin d'éliminer l'excès de bichlorure de mercure.

4° *Liquide de Nawashin.* — Sa formule a été indiquée par P. DANGEARD (1937). On prépare les deux solutions suivantes :

a) Solution A :

Acide chromique	1,5 g.
Acide acétique cristallisable	10 cm ³
Eau distillée	90 cm ³

b) Solution B :

Formol commercial	40 cm ³
Eau distillée	60 cm ³

Au moment de l'emploi, on mélange à parties égales les deux solutions, on fixe le matériel pendant vingt-quatre heures, et on termine en lavant à l'eau courante pendant vingt-quatre heures.

5° *Liquide de Bouin ou Picroformol de Bouin.* — Il a la composition suivante :

Solution aqueuse saturée d'acide picrique ..	30 parties.
Formol à 40 p. 100	10 parties.
Acide acétique cristallisable	2 parties.

La fixation, sans nécessité de lavage, est de quatre jours.

6° *Liquide de Bouin-Hollande ou Picroformol cuprique.* --

Proportions indiquées par HOLLANDE :

Eau distillée	100 cm ³
Acétate neutre de cuivre	2,5 g.
Acide picrique	4 » g.
Formol à 40 p. 100	10 cm ³
Acide acétique cristallisable	1,5 cm ³

La fixation dure vingt-quatre heures, le matériel est lavé avec de l'eau distillée renouvelée deux ou trois fois.

7° *Liquide alcooformomercurique*, dont la formule inédite nous a été donnée par G. MALVESIN-FABRE :

Alcool éthylique à 95°	30 cm ³
Formol à 40 p. 100	20 cm ³
Bichlorure de mercure	2 g.

Durée de la fixation : vingt-quatre heures.

Elle est suivie d'un lavage très soigné de vingt-quatre heures à l'eau courante.

B. — CONFECTION DES COUPES

Nous avons fait des coupes dont l'épaisseur varie de 5 à 8 μ .

La technique utilisée préalablement est la suivante : le matériel, fixé et conservé dans l'alcool à 80°, est mis à déshydrater dans des alcools de plus en plus forts, puis est imprégné de xylol, solvant qui facilitera la pénétration de la paraffine fondue.

Les opérations ont été conduites de la manière suivante :

Alcool à 80°	12 heures.
1 ^{re} Alcool à 95°	12 heures.
2 ^e Alcool à 95°	12 heures.
1 ^{re} Alcool absolu	12 heures.
2 ^e Alcool absolu	12 heures.
Alcool xylol	12 heures.
1 ^{re} Xylol	6 heures.
2 ^e Xylol	6 heures.
1 ^{re} Paraffine	12 heures.
2 ^e Paraffine	12 heures.
3 ^e Paraffine	12 heures.

Ces temps nous ont paru les meilleurs pour une bonne obtention des coupes.

C. — COLORATION

Les coupes ont été ensuite colorées à l'hématoxyline ferrique, et secondairement à l'hématéine-éosine.

1° *Coloration à l'hématoxyline ferrique de Heidenhain.* — Nous avons utilisé la formule précisée par REGAUD et donnée par NOEL (1922) :

Eau distillée	80 cm ³
Alcool à 95°	10 cm ³
Glycérine	10 cm ³
Hématoxyline	1 g.

La solution obtenue n'est pas utilisée tout de suite : il y a intérêt à la laisser « mûrir ». En effet, plus elle est vieille, plus son pouvoir colorant est augmenté.

Après le collage des coupes sur lamelle, elles sont déparaffinées par passage dans un solvant tel que le benzène, puis réhydratées par passages successifs dans des alcools de moins en moins forts; elles sont ensuite soumises à un mordantage dans une solution d'alun de fer ammoniacal à 5 p. 100 pendant vingt-quatre heures, puis lavées à l'eau courante pendant une heure; le temps de coloration n'est pas fixe, nous avons coloré généralement pendant vingt-quatre heures; nous avons ensuite différencié les coupes, d'abord grossièrement dans une solution d'alun de fer ammoniacal à 4 p. 100 puis minutieusement avec l'aide du microscope, dans une solution d'alun de fer ammoniacal à 2 p. 100 : cette dernière opération est la plus délicate, elle dure plus ou moins longtemps selon que l'observateur a l'intention d'étudier tel ou tel élément cellulaire.

La différenciation est arrêtée en plaçant les coupes dans de l'eau.

La conservation des coupes est obtenue en les déshydratant par passages successifs dans des alcools de plus en plus forts, puis en les montant au baume du Canada après les avoir imprégnées de xylol.

Double coloration hématoxyline - eau iodée. — Nous l'avons quelquefois utilisée afin de colorer les grains d'amidon; sa portée est très faible, car la coloration donnée n'est pas nette et dure peu. Pour l'obtenir, il suffit, après la différenciation dans l'alun de fer, de plonger les coupes dans une solution

d'eau iodée et de déshydrater très rapidement dans l'alcool absolu.

2° *Double coloration à l'hématéine-éosine.* -- Pour l'hématéine, nous avons utilisé la formule de BEYLOT et BAUDRIMONT (1932) :

Solution A :

Hématéine	1 g.
dissoute à l'avance dans	
Alcool à 95°	100 cm ³

Solution B :

Alun de potasse	50 g.
dissous à chaud dans	
Eau distillée	100 cm ³

Verser lentement la solution A dans la solution B. Le mélange peut être facilement conservé.

Durée de la coloration : vingt-quatre heures.

Les coupes sont ensuite colorées par une solution d'éosine à 2 p. 100 dans l'alcool à 95°.

RECHERCHES PERSONNELLES

CHAPITRE PREMIER

MATURATIONS

CYTISUS ALPINUS

Nous avons étudié la maturation des graines de *Cytisus alpinus* récoltées à Bordeaux en juin-juillet, et plus spécialement l'évolution des cellules épidermiques cotylédonaire et parenchymateuses.

Etude vitale et postvitale

Dès la naissance de l'embryon, celui-ci verdit, indiquant la formation précoce du pigment chlorophyllien. Toutes ses cellules sont occupées par de très grandes vacuoles entourées d'une petite bande de protoplasme (fig. a, pl. I) ; de nombreux essais nous ont prouvé que ces cellules étaient réfractaires à la coloration vitale au rouge neutre.

Dans un embryon à peine plus âgé, mesurant 3 mm. de long, les vacuoles des cellules parenchymateuses accumulent à leur intérieur de gros corpuscules peu réfringents, incolores, qui, à mesure que la maturation avance, augmentent de volume et en nombre (on peut en compter six à dix par vacuole [fig. b, pl. I]).

Ces corpuscules énigmatiques sont généralement sphériques; cependant, leur forme peut être allongée, leur taille est variable, mais en général ne dépasse pas celle du noyau; nous les observons vitalemment sans le concours de colorant, leur naissance est donc naturelle, et n'est pas due à l'action d'un agent externe.

Ils se colorent vitalement par le rouge neutre qui leur donne une teinte rose rouge, sur un fond vacuolaire à peine rose, très souvent incolore.

Ces corpuscules sont-ils homogènes ? A première vue, ils ne le paraissent pas et semblent contenir des inclusions sphériques, d'une réfringence rose, différente de la matière qui les entoure; ces inclusions sont de tailles diverses, et si certains corpuscules semblent en posséder de petites et très nombreuses, d'autres sont occupés par une grande inclusion unique. Nous verrons par la suite à quoi sont dues ces inclusions et quelle en est la nature.

Le rouge neutre les colore vitalement, et si nous suivons au microscope leur coloration vitale, nous voyons que ce sont ces inclusions qui se colorent les premières, puis le reste du corpuscule, mais cette hétérogénéité dans la coloration vitale du corpuscule est éphémère; rapidement elle disparaît et le corpuscule reste coloré sans trace d'hétérogénéité.

Ces corpuscules se situent au sein même de la vacuole, quelquefois ils se collent à la paroi vacuolaire et peuvent émigrer dans la bande protoplasmique toute proche et, dans ce cas, surtout s'ils sont petits, il est très facile de les confondre avec des leucoplastes.

Le protoplasme entourant ces vacuoles hétérogènes contient des plastes chlorophylliens, sphériques, et de nombreuses petites granulations très réfringentes animées de mouvements désordonnés; par le Soudan III, ces dernières se colorent en rouge vif et elles réduisent à leur niveau l'acide osmique; elles sont donc de nature lipidique.

L'épiderme ne présente rien de particulier, chaque cellule est occupée par une grande vacuole, homogène, contenant très rarement de très petits corpuscules; à ce stade (embryon de 3 mm.), leur coloration vitale est possible, mais il faut en général un bain assez prolongé, de trente minutes environ, dans le rouge neutre à 1/5.000^e, pour l'obtenir.

Le protoplasme épidermique est très granuleux; il est difficile d'y observer les plastes, car ils sont de très faible taille.

Dans les stades ultérieurs de maturation, nous allons suivre d'une manière très précise la division vacuolaire : une première observation nous donne une image très précise de l'évolution vacuolaire (fig. c, pl. I), la cellule figurée montre

un vacuole de forme très tourmentée, nette grâce au rouge neutre qui le colore en rose pâle. Les corpuscules colorés en rouge vif qui s'y trouvent sont nombreux et se situent de la manière suivante : certains se trouvent au milieu de la vacuole, d'autres, plus nombreux, se localisent dans les diverticules de la vacuole et sont ainsi étroitement accolés au protoplasme; quelquefois, deux bras de protoplasme se referment, isolant ainsi un ou plusieurs corpuscules. Une nouvelle vacuole hétérogène prend ainsi naissance, mais cette formation peut prêter à confusion si elle contient très peu de suc vacuolaire; le corpuscule l'occupe alors entièrement, et il est très facile de le considérer comme une inclusion d'origine protoplasmique.

Les cellules épidermiques des cotylédons ont une évolution plus rapide et plus simple, la division vacuolaire est très égale, les corpuscules vacuolaires existent, mais ne gênent pas la division par suite de leur faible volume (fig. e, pl. I).

Les cotylédons, à cette époque, sont très chlorophylliens : les cellules allongées du futur parenchyme palissadique contiennent de nombreux chloroplastes, sphériques ou hémisphériques; ces chloroplastes ne possèdent pas d'inclusions, le réactif iodo-ioduré les colore en brun; cependant, cette coloration n'est pas nette, et elle ne peut être caractéristique de la présence d'amidon.

Les cellules épidermiques contiennent dans leur protoplasme de petits organites sphériques et incolores qui sont vraisemblablement des leucoplastes.

Les inclusions huileuses sont plus abondantes : au niveau du parenchyme cotylédonaire, nous avons coloré par le Soudan III des globules sphériques très réfringents, et de petites granulations mobiles de nature lipidique.

Considérons maintenant des graines presque mûres et dont le tégument commence à brunir; chaque cellule contient plusieurs vacuoles, petites et grandes, à aspect physique variable :

Certaines vacuoles ont un aspect homogène ou hétérogène; quand il y a hétérogénéité, le corpuscule peut avoir un aspect homogène, finement granuleux (type sable oxalifère) ou alvéolaire (fig. f, pl. I).

Que représentent ces divers aspects du vacuome ?

Pour pouvoir y répondre, nous allons faire réagir certains réactifs sur ces mêmes éléments, vus au stade précédent, lorsque ces aspects divers n'avaient pas encore apparu. Les réactifs utilisés sont:

- 1° L'alcool éthylique à 95°;
- 2° Une solution aqueuse d'acide acétique au 1/1.000°;
- 3° Une solution aqueuse de potasse caustique (XX gouttes de KOH N/5 dans 5 cm³ d'eau distillée).

ACTION DE L'ALCOOL ÉTHYLIQUE A 95°

Un corpuscule d'aspect homogène devient alvéolaire puis finement granuleux;

Un corpuscule d'aspect alvéolaire devient finement granuleux :

— Si l'aspect est grossièrement alvéolaire, les inclusions diminuent de volume et se fusionnent peu à peu;

— Si l'aspect est finement alvéolaire, le corpuscule prend de suite l'aspect finement granuleux.

Ainsi, l'aspect général obtenu est celui observé à un stade plus avancé de maturation.

La déshydratation naturelle est remplacée par une déshydratation artificielle à l'aide de l'alcool à 95°, corps éminemment déshydratant.

Les alvéoles observés dans les corpuscules sont des parties plus riches en eau que le reste de la matière qui les contient.

L'alcool permet donc d'accélérer la déshydratation vacuolaire; les aspects observés, macro-alvéolaires à micro-granuleux, représentent des états particuliers plus ou moins avancés de déshydratation.

ACTION DE L'ACIDE ACÉTIQUE

Les corpuscules intravacuolaires se dissolvent très rapidement et la vacuole devient homogène.

ACTION DE LA POTASSE CAUSTIQUE

Nous avons pratiqué de nombreux essais à l'aide de ce réactif, les corpuscules intravacuolaires subsistent, leur forme seule peut varier.

Avant de conclure sur ces différentes réactions, nous devons

revenir sur la coloration vitale pratiquée sur ce vacuome : les corpuscules intravacuolaires se colorent vitalement en rouge tirant vers l'orangé, tandis que le suc vacuolaire devient rose et quelquefois reste incolore; cette coloration orangée indique une réaction alcaline du corpuscule et permet d'expliquer sa rapide dissolution en présence d'une solution acide qui neutralise le milieu. Ces corpuscules représentent la matière protéique vacuolaire, aleurique plus exactement, précipitée naturellement par suite d'une variation de pH. Ce déséquilibre ionique doit être attribué à la nature chimique de cette matière protéique essentiellement constituée de globulines.

Le plastidome est représenté dans ces graines presque mûres par des plastes peu chlorophylliens et peu amylières, de forme atypique, comme nous le verrons par la suite après fixation.

Dans les cellules épidermiques, nous notons la présence de petits leucoplastes et l'absence totale d'amidon.

L'huile se trouve sous forme de petits globules réfringents et de très nombreuses granulations.

Quand la maturation est terminée et quand les téguments des graines sont entièrement bruns, les cellules profondes cotylédonaire sont remplies de grains d'aleurone, sphériques, ovales ou polygonaux, homogènes, plus ou moins gros, entre lesquels on peut observer de petits plastes incolores, non amylières, et de gros globules lipidiques très réfringents et assez abondants (fig. i, pl. I).

Une bonne observation de l'huile dans la graine mûre peut être réalisée en colorant les grains d'aleurone en jaune brun par un réactif iodé assez concentré; l'huile apparaît plus nettement, incolore et fortement réfringente.

Les grains d'aleurone des cellules épidermiques cotylédonaire sont homogènes, très nombreux, tous d'une taille assez identique (fig. h, pl. I). Les plastes sont difficiles à observer, l'huile est sous forme de fines granulations réparties uniformément dans le protoplasme cellulaire.

Etude après fixation

Nous avons fixé différents stades de maturation de *Cytisus alpinus*, à l'aide des liquides de BOUIN, HELLY, NAWASCHIN et

REGAUD; le vacuome a été très bien conservé par les liquides de HELLY et de REGAUD, fixateurs à base de bichromate.

Le plastidome et le chondriome nous ont paru le mieux fixés par le liquide de REGAUD avec une postchromisation de huit jours au minimum pour l'étude du chondriome.

Le liquide de NAWASCHIN a été un fixateur de valeur moyenne du vacuome et du plastidome, mais n'a pas conservé le chondriome. Enfin, quelques coupes ont été fixées au liquide de BOUIN qui s'est montré un fixateur convenable du vacuome, médiocre du plastidome.

Dans de très jeunes embryons, la méthode de REGAUD permet de mettre en évidence dans les cellules parenchymateuses (fig. d, pl. II), de grandes vacuoles non chromophiles, contenant très souvent des précipités globuleux colorés en noir par l'hématoxyline; quand la maturation avance, les vacuoles se divisent et accumulent en même temps la matière protéique de réserve qui précipite sous forme de globules prenant fortement l'hématoxyline : ces globules chromophiles intravacuolaires (fig. f, pl. II) peuvent être déplacés, soit naturellement avant la fixation, soit sous l'action du fixateur, et émigrer dans le protoplasme; ce n'est pas le cas général, mais très souvent nous l'avons observé.

Dans la graine mûre, les vacuoles déshydratées sont formées presque uniquement de protides, elles ont un aspect homogène et elles prennent entièrement l'hématoxyline; elles représentent les grains d'aleurone définitivement formés (fig. i, pl. II).

Ainsi, la précipitation naturelle de la matière protéique au début de la maturation permet d'affirmer que l'aleurone des graines de *Cytisus alpinus* se forme très précocement dans les cellules parenchymateuses, avant toute déshydratation.

Dans les cellules parenchymateuses des jeunes embryons, le plastidome est composé de très petits chloroplastes chromophiles, certains continuent à grossir et élaborent à leur intérieur de l'amidon; le *stroma* entourant les grains d'amidon est ici épais et très chromophile.

En fin de maturation, les amyloplastes voient leur inclusion diminuer de volume, tandis qu'eux-mêmes prennent souvent des formes irrégulières, signe d'une future dégénérescence (fig. g, g', pl. II).

Les plastes sont accompagnés de mitochondries, soit granu-

leuses, soit en minces bâtonnets, longs, quelquefois ondulés, que l'on ne peut confondre, au stade où nous les avons observés, avec les amyloplastes en dégénérescence (fig. g, g', pl. II).

DORYCNium SUFFRUTICOSUM

L'étude de la maturation des graines de *Dorycnium suffruticosum* présente une grande difficulté d'ordre pratique en raison de leur petite taille : ce sont, en effet, des graines sphériques qui, en période de maturation, ont un diamètre de 1,5 à 2 mm.; ce diamètre, dans la graine mûre, n'est plus que de 1,4 à 1,5 mm.

Il est très difficile d'y pratiquer des coupes, même tangentielles, à la surface de l'épiderme; nous avons pu néanmoins faire de nombreuses observations, autant vitales que post-vitales.

Etude vitale et postvitale

Etudions tout d'abord une très jeune graine de 1,5 mm. de diamètre; elle est déjà franchement verte; enlevons les téguements délicatement et extirpons les deux petits cotylédons : ceux-ci sont très minces; leurs dimensions sont les suivantes : 0,6 mm. d'épaisseur, 1,3 mm. de longueur.

Les colorations vitales sont très faciles à obtenir : il suffit de placer un cotylédon dans une solution de rouge neutre au 1/5.000^e pendant environ dix minutes. On pratique ensuite une coupe tangentielle à la surface, assez épaisse pour pouvoir aussi observer au microscope une ou deux couches de cellules sous-jacentes aux cellules épidermiques. Ces cellules ne sont pas lésées et peuvent être observées vitalement. Nous avons pu ainsi obtenir, dès ce stade, de très belles colorations vitales; les cellules parenchymateuses montrent une grande vacuole colorée en rose pâle, entourée d'une large bande protoplasmique (fig. a, pl. III).

Les cellules épidermiques contiennent une, deux ou trois vacuoles colorées en rouge vif sur un fond protoplasmique réfringent et incolore (fig. c, pl. III); le noyau de ces cellules reste incolore : c'est donc bien la preuve d'une coloration vitale.

Le plastidome est déjà bien développé : il est représenté

dans les cellules parenchymateuses par des amas d'organites globuleux, de réfringence verte; le réactif iodo-ioduré leur donne une coloration noire : ce sont des chloroplastes amyli-fères; ils sont généralement accompagnés d'éléments verts plus petits, non colorables par le réactif iodo-ioduré et représentant des chloroplastes. Les cellules épidermiques contiennent aussi des plastes amyli-fères : quatre à cinq par cellule, de moindre volume, accompagnés aussi de petits chloroplastes; cette présence abondante de plastes chlorophylliens et amyli-fères est remarquable dans un épiderme, tissu souvent dénué de tout élément chlorophyllien.

A un stade à peine plus avancé, nous avons essayé de colorer vitalement les cellules : nous n'y avons pas réussi, malgré de nombreux essais effectués avec des concentrations variables de colorant et des temps de colorations différents.

L'observation vitale nous a permis de constater peu de changements dans l'aspect du vacuome (fig. b, pl. III). De son côté, le plastidome a beaucoup évolué; les chloroplastes amyli-fères ont considérablement grossi : certains peuvent atteindre un volume égal environ au quart de celui du noyau cellulaire. Leur maximum de taille est atteint dans les cellules sous-épidermiques (fig. f, pl. III).

Dans des embryons plus âgés mesurant 1,8 mm. de long, les cellules épidermiques cotylédonaire contiennent trois à quatre vacuoles homogènes qui se colorent vitalement en rouge vif par le rouge neutre (fig. d, pl. III). Les cellules parenchymateuses contiennent toujours une seule vacuole, colorable aussi vitalement, mais d'aspect tourmenté faisant prévoir sa future division.

Jusqu'à présent, les lipides se montrent sous la forme de très petites granulations réfringentes animées de mouvements browniens. Ils réduisent l'acide osmique, et nous avons pu les colorer en rouge par le Soudan III.

Quand les cotylédons atteignent leur taille maximum (2 mm.), le vacuome n'a guère évolué si ce n'est dans les cellules épidermiques (fig. e, pl. III) : le rouge neutre y met en évidence quatre à six petites vacuoles contenant de petits précipités rouge vif provoqués par le colorant; ces derniers sont très souvent accolés à la paroi vacuolaire et quelquefois la franchissent par déséquilibre osmotique, pouvant faire

croire à une formation d'origine protoplasmique. Quant aux vacuoles des cellules profondes, elles se colorent vitalement sans la moindre précipitation.

Le plastidome a suivi une évolution différente, qu'il s'agisse du tissu épidermique ou parenchymateux : l'épiderme contient toujours des plastes, mais tous de petite taille; les inclusions des amyloplastés sont devenues très petites et, dans une même cellule, le réactif iodo-ioduré en colore certaines en bleu-noir, d'autres en brun-acajou.

Cette coloration brun-acajou est l'indice de la présence d'érythrodextrines représentant un stade inférieur de polymérisation de l'amidon. Elle ne peut être due au réactif puisque, dans la même cellule, il est possible de déceler des inclusions d'amidon se colorant en bleu.

Dans les cellules profondes, le réactif iodo-ioduré met en évidence de gros grains d'amidon sphériques ou elliptiques dont l'enveloppe plastidiale est réduite à une fine pellicule verte entourant entièrement les grains.

Dans ces mêmes cellules, l'huile est représentée par de très petites granulations. Il est impossible, à ce stade, après une seule observation cytologique, d'en apprécier les variations quantitatives.

Quand les gousses et les graines brunissent, c'est le signe d'une future et proche déshydratation; les graines deviennent rapidement dures, et la déshydratation est très rapide. Il serait bon, dès ce moment, de peser les graines afin de pouvoir suivre ce phénomène sans craindre d'en confondre les différentes phases. Néanmoins, après maints tâtonnements, nous avons pu saisir deux stades successifs de déshydratation avec les caractéristiques suivantes :

1° Gousse brun-rougeâtre; graine : tégument vert, cotylédons verts, poids : 1,65 mg.

2° Gousse brun-rougeâtre; graine : tégument vert pâle, cotylédons vert pâle, presque incolores, poids : 1,50 mg.

La déshydratation finale est très rapide : dans la nature, elle s'opère en deux jours, du fait de la petitesse des graines; il s'ensuit que la surface d'évaporation est très grande pour un poids sec déterminé.

Premier stade de déshydratation. — Une observation vitale sans colorant met en évidence dans les cellules épidermiques

huit à douze petites vacuoles sphériques, de tailles diverses, qui paraissent contenir de petites inclusions sphériques de réfringence plus nette et plus claire que le reste de la matière vacuolaire (fig. g, pl. III). Cet état, que l'on peut qualifier d'« alvéolaire », ne correspond pas à une hétérogénéité chimique de la substance vacuolaire; il est dû à une déshydratation irrégulière de la matière protéique vacuolaire. Les inclusions représentent les parties les plus hydratées, donc les moins concentrées. Si nous laissons les coupes immergées dans de l'eau pendant un temps assez long, par exemple un quart d'heure, cet « aspect alvéolaire » disparaît; c'est pour la même raison que la coloration vitale ne le conserve pas davantage.

Dans les cellules parenchymateuses (fig. h, pl. III), les vacuoles se divisent aussi, mais la division ne sera jamais poussée : chaque cellule contient deux à cinq vacuoles de forme non géométrique, renfermant chacune des « inclusions claires » qui sont plus volumineuses que celles observées dans le tissu épidermique, observation qui est un argument en faveur de leur plus forte hydratation, puisque les tissus internes se déshydratent moins rapidement que les épidermes.

Deuxième stade de déshydratation. — Les vacuoles aleuriques ont terminé leur évolution morphologique; leur forme, qui représente celle des grains d'aleurone, est définitivement fixée : un fait intéressant à noter, c'est l'aspect « ponctué » qu'elles ont pris dans toutes les cellules (fig. j, k, l, pl. III); cet aspect, comme l'aspect « alvéolaire », ne persiste pas après un séjour prolongé de la coupe dans l'eau, et n'est pas conservé par la coloration vitale. Nous pouvons dès à présent considérer que la déshydratation est terminée et que nous sommes en présence d'une graine mûre. Dans les cellules épidermiques, le rouge neutre permet d'observer dans chaque cellule un grand nombre (dix à quinze) de grains d'aleurone de diverses tailles, colorés en rouge vif avec homogénéité. Dans les cellules profondes, l'aleurone se présente en général sous forme de quatre à neuf gros grains, quelquefois moins, occupant presque toute la cellule et colorables en rouge orangé par le rouge neutre.

Le plastidome est représenté dans l'épiderme par de petits plastes dont certains élaborent de l'amidon.

Les gros plastes amylières, à inclusion unique, du parenchyme, sont accompagnés de petits plastes incolores arrondis ou en fuseau. Les grains d'amidon de ces cellules internes possèdent un hile rectiligne très visible et une fine enveloppe plastidiale difficile à discerner quant à sa couleur (fig. k', pl. III).

Nous avons pu, avant la déshydratation de cette graine, observer quelques rares grains d'amidon composés dans les cellules du parenchyme; cet amidon se résorbe par la suite, puisque nous ne l'avons plus retrouvé en fin de maturation.

Pendant la période de déshydratation, l'huile s'accumule peu à peu dans les cellules parenchymateuses. Dans la graine mûre, les petites gouttelettes lipidiques réduisent facilement l'acide osmique qui leur communique une teinte grise.

Etude après fixation

Les coupes fixées nous ont permis de suivre la transformation des vacuoles en grains d'aleurone; ces derniers se forment assez précocement dans les cellules épidermiques, et tardivement dans les cellules profondes. Nous avons noté la chromophilie de plus en plus forte du suc vacuolaire à mesure que sa concentration en matières protéiques augmente.

Au début de la maturation, les vacuoles apparaissent incolores, car elles sont peu chargées en matières protéiques (fig. a, pl. V); cet état se maintient assez longtemps. A un stade assez avancé de maturation, l'hématoxyline, après fixation au liquide de REGAUD, colore en noir des précipités vacuolaires d'aspect globuleux. Une fixation au liquide de BOVIN détermine de même, dans les vacuoles incolores, des précipités chromophiles qui s'accolent aux parois vacuolaires en formant un enduit plus ou moins épais (fig. i, j, k, pl. IV). Ces précipités chromophiles représentent la matière protéique vacuolaire précipitée sous différentes formes, selon le fixateur employé. Puis, très rapidement, la graine se dessèche; quand la maturation est presque terminée, cette hétérogénéité disparaît, les vacuoles se colorant uniformément en noir (fig. c, pl. V); les grains d'aleurone sont alors définitivement formés.

L'aspect ponctué de l'aleurone, formé en fin de maturation,

est conservé par les fixateurs; cependant, pour l'observer, il faut que la régression réalisée à l'aide de la solution d'alun de fer à 4 p. 100 après coloration à l'hématoxyline ferrique, soit très poussée; l'aleurone apparaît alors composé de petits grains noirs, très fins, analogues à ceux vus au cours de l'observation vitale. Cet aspect n'est cependant pas constant : une même cellule peut contenir certains grains paraissant ponctués et d'autres homogènes après fixation.

En même temps que le vacuome, les plastes ont été étudiés à l'aide des fixateurs de BOUIN et de REGAUD; c'est ce dernier fixateur qui les a conservés le mieux.

Au début du développement de l'embryon, les cellules parenchymateuses des cotylédons recèlent de petits plastes très chromophiles tous semblables; certains possèdent une petite inclusion non chromophile. Rapidement, ces derniers grossissent et le liquide de REGAUD nous permet de bien les observer (fig. a, pl. V) : l'enveloppe plastidiale des grains d'amidon est très chromophile; elle s'est quelquefois épaissie sur un bord. Les plastes amyliifères sont accompagnés de plastes plus petits, sphériques, entièrement chromophiles, représentant vraisemblablement des chloroplastes.

Quand la maturation avance, les grains d'amidon se multiplient; certains sont simples, d'autres composés; à un stade assez avancé, le *stroma* plastidial de certains de ces grains s'étire en un filament chromophile (fig. b, b', pl. V). Cet aspect « mitochondrial » n'est pas naturel, il est le signe d'un début de dégénérescence du plaste amyliifère; il ne doit pas faire confondre cet élément du plastidome avec un constituant du chondriome.

Le plastidome des cellules épidermiques des cotylédons est bien constitué, comme nous l'a montré l'observation vitale, par des plastes très chromophiles et d'autres contenant un gros grain d'amidon qui, peu à peu, diminue pour disparaître presque complètement en fin de maturation.

Dans la graine mûre, les grains d'amidon sont tous entourés par une fine pellicule chromophile et continue; il est possible d'apercevoir leur hile au centre, sous la forme d'un mince filament rectiligne légèrement foncé.

Tout au début de la maturation, le chondriome nous a paru composé de mitochondries granuleuses et de bâtonnets très

courts que nous pouvons aisément distinguer des plastes déjà très différents par leur forme et leur taille plus grande (fig. a', pl. V); observés à un stade plus avancé, ces éléments du chondriome restent inchangés et ne peuvent être confondus avec les plastes en évolution constante (fig. b', c, pl. V).

SOJA HISPIDA

Etude vitale et postvitale

VACUOME

Après avoir fait des coupes dans des graines de *Soja hispida* à différents stades de maturité, nous avons essayé de les colorer vitalement à l'aide d'une solution de rouge neutre. Nous avons, auparavant, déterminé expérimentalement la concentration *optimum* de la solution de rouge neutre qu'il nous fallait utiliser; pour cela, nous avons fait des solutions de rouge neutre dans l'eau distillée aux concentrations suivantes : 1/1.000^e, 1/3.000^e, 1/5.000^e et 1/10.000^e.

Le matériel était une graine mûre de *Soja hispida* gonflée après un passage de cinq heures sur du papier filtre mouillé; nous avons fait des coupes qui ont été immergées dans les solutions précédentes pendant cinq à dix minutes; nous y avons observé les cellules parenchymateuses; les résultats obtenus sont les suivants :

1° Solution de rouge neutre au 1/1.000^e : les cellules sont tuées par le colorant; les grains d'aleurone sont bien rouges ou roses, mais le rouge neutre a aussi coloré le noyau et le protoplasme.

2° Solution de rouge neutre au 1/3.000^e : les cellules sont mortes comme précédemment; cependant, quelques-unes ont seulement leurs vacuoles colorées en rose vif, mais le colorant commence à diffuser dans le protoplasme.

3° Solution de rouge neutre au 1/5.000^e : les cellules se colorent vitalement; en effet, les vacuoles sont rose vif, le protoplasme et le noyau demeurent incolores.

4° Solution de rouge neutre au 1/10.000^e : la coloration vitale des cellules parenchymateuses ne s'effectue pas; seules se colorent les cellules épidermiques et celles en bordure des vaisseaux,

La solution de rouge neutre au 1/5.000^e est celle que nous avons adoptée pour poursuivre notre étude.

Nous avons remarqué que les vacuoles accumulent le colorant et prennent très rapidement une coloration beaucoup plus intense que celle de la solution elle-même; ainsi, les vacuoles ont une véritable électivité pour le rouge neutre.

Avant de commencer l'étude détaillée, nous avons observé comment se comporte le colorant vis-à-vis d'une coupe mince; nous avons donc enlevé soigneusement le tégument de la graine, puis fait plusieurs coupes qui ont été immergées dans la solution de rouge neutre au 1/5.000^e; avec un faible grossissement, nous constatons que :

1° La coupe est entièrement colorée par le rouge neutre;

2° Ce sont les cellules épidermiques et les cellules bordant les vaisseaux qui sont colorées d'une manière plus intense, ce qui indique une plus grande perméabilité; l'épiderme prend une teinte rouge vif, le parenchyme, une teinte rouge tirant vers l'orangé; cette différence de teinte est due à une réaction légèrement acide de l'épiderme, le colorant jouant le rôle d'indicateur, comme l'a montré P. DANGEARD.

Nous avons suivi l'évolution du vacuome dans les cellules épidermiques et profondes. La longueur des graines étudiées était de : 2, 3, 4, 5 et 6 mm.

A) *Cellules épidermiques.* — a) Graine de 2 mm. de longueur (fig. a, pl. VI). — Dans l'épiderme externe, les cellules ont une forme polygonale, leur membrane est à peine visible, leur cytoplasme semble ainsi être confondu; le noyau est rejeté sur le bord de la cellule, dans la mince couche de protoplasme qui entoure une grande vacuole. Les cellules se colorent vitalement, les vacuoles prennent une teinte rose pâle quelquefois accompagnée de petits précipités rouge vif.

Dans l'épiderme interne, nous faisons les mêmes constatations; de plus, les vacuoles paraissent être plus grandes.

La coloration vitale, à ce stade, est difficile à réaliser, il semblerait que la concentration du colorant soit trop forte; la solution au 1/10.000^e donne de meilleurs résultats.

b) Graine de 3 mm. de longueur. — Les vacuoles ont subi de notables transformations; dans l'épiderme externe, chaque cellule contient deux à quatre vacuoles de forme géométrique, ronde ou ovale, colorées en rose par le rouge

neutre et contenant de petits précipités sphériques rouge vif.

Dans l'épiderme interne, les cellules ne contiennent généralement qu'une à trois vacuoles.

c) Graine de 4-5 mm. de longueur (fig. b, pl. VI). — Les vacuoles continuent à se fragmenter; nous observons quatre à huit vacuoles rose vif contenant des précipités rouge vif de nombre et de grosseur variables suivant les cellules; les vacuoles les plus petites semblent occupées entièrement par le précipité rouge vif.

d) Graine de 6 mm. de longueur (fig. c, pl. VI). — Les téguments de la gaine brunissent, indiquant un début de déshydratation; la division vacuolaire s'accélère, chaque cellule contient huit à douze vacuoles, rondes ou ovales, colorées en rose un peu plus vif que dans les stades précédents; de nombreuses vacuoles sont entièrement colorées en rouge vif, d'autres contiennent encore quelques précipités surcolorés.

Au fur et à mesure de la déshydratation, les vacuoles se divisent activement; quand la déshydratation est presque terminée, chaque cellule contient quinze à vingt vacuoles et quelquefois même plusieurs dizaines, surtout dans l'épiderme externe; ces vacuoles se colorent toutes en rouge vif, et nous pouvons considérer qu'elles représentent des grains d'aleurone définitivement formés.

Ainsi, l'évolution du vacuome dans les cellules épidermiques est régulière et très simple. La fragmentation de la grande vacuole primitive est progressive, de même que son enrichissement en matières protéiques qui précipitent par le rouge neutre en globules rouge vif. L'aleurone se forme donc précocement, mais son aspect morphologique définitif ne sera atteint qu'après la déshydratation terminale.

B) *Cellules profondes*. — L'évolution du vacuome dans les cellules profondes est plus difficile à suivre en raison des nombreuses précipitations naturelles ou pathologiques qui s'y font.

a) Graine de 2 mm. de longueur (fig. d, pl. VI). — Les cellules ont une forme ronde ou polygonale, elles sont occupées, comme dans les cellules épidermiques, par une grande vacuole difficilement colorable vitalement par le rouge neutre; le contenu vacuolaire est homogène.

b) Graine de 3 mm. de longueur (fig. e, pl. VI). — La

vacuole unique présente des déformations qui font prévoir une future division; c'est encore un stade univacuolaire, mais où la vacuole, au lieu d'avoir une forme géométrique, revêt les formes les plus diverses.

c) Graine de 4-5 mm. de longueur (fig. f, pl. VI). — La division vacuolaire a commencé, certaines cellules contiennent plusieurs vacuoles de volume très variable, leur contenu protéique précipite naturellement sous forme de globules surcolorables vitalement par le rouge neutre; l'entrée du colorant vital dans les vacuoles détermine aussi une précipitation de la matière protéique.

Ainsi, la matière protéique élaborée floccule dans les vacuoles, soit naturellement, soit artificiellement, par action du rouge neutre.

d) Graine de 6 mm. de longueur (fig. f', pl. VI). — Le nombre de vacuoles s'accroît; la précipitation des matières protéiques devient de plus en plus intense, à tel point que certains précipités émigrent dans le protoplasme périvacuolaire par déséquilibre osmotique provoqué par l'entrée du colorant vital. Quand la déshydratation est presque terminée, les vacuoles se colorent uniformément en rouge tirant vers l'orangé; leur contenu est alors homogène et on peut admettre qu'il représente l'aleurone définitivement formé.

L'étude de la maturation de la graine de *Soja hispida* nous a permis de suivre la formation des grains d'aleurone. Grâce aux méthodes de choix offertes par les colorations vitales, nous avons constaté que, chez cette espèce, ces éléments résultent uniquement de l'évolution de l'appareil vacuolaire; nous montrerons d'ailleurs plus loin que ces constatations sont valables pour d'autres espèces.

PLASTIDOME

Les plastes sont précocement actifs dans les graines de Soja en voie de maturation; dès que l'embryon commence à se développer, il verdit et accumule de l'amidon; nous avons suivi l'évolution du plastidome dans les cellules épidermiques et profondes des cotylédons en formation.

A) *Cellules épidermiques*. — Dans les cellules épidermiques d'embryon de 2 mm. de longueur, nous observons quelques

très petits plastes sphériques et incolores, encore dépourvus de toute inclusion glucidique; quand la maturation avance, ces plastes ne tardent pas à verdir, certains d'entre eux élaborent un petit grain d'amidon; quand la graine est presque mûre, chaque cellule contient trois à six plastes possédant chacun un à trois petits grains d'amidon. Quelques plastes n'élaborent pas d'amidon, mais toutefois ils sont chlorophylliens. Quand la graine est définitivement formée, la chlorophylle disparaît, mais l'amidon n'est pas résorbé; les cellules épidermiques d'une graine mûre sont donc pourvues d'amidon.

B) *Cellules profondes*. — Dans les cellules profondes d'embryon de 2 mm. de longueur, le plastidome est déjà représenté par des chloroplastes et des amyloplastes à inclusions multiples. Très rapidement, l'activité de l'amylogenèse s'accroît; quand la graine est à demi-mûre, chaque cellule contient une vingtaine de plastes élaborant un à huit grains d'amidon, accompagnés de gros chloroplastes, surtout abondants dans le parenchyme sous-épidermique.

Quand la graine se dessèche, ses téguments brunissent, la chlorophylle formée dans les tissus disparaît; en même temps, mais surtout en fin de dessiccation, une partie de l'amidon se résorbe; toutefois, dans la graine définitivement formée, les cellules profondes contiennent encore quelques grains d'amidon composés.

LIPIDES

La graine mûre de *Soja hispida* est riche en huile; au cours de sa maturation, nous avons suivi la lipogenèse dans les cellules épidermiques et profondes des cotylédons.

Dans les cellules épidermiques de très jeunes embryons, l'huile est représentée par de fines granulations réfringentes; très mobiles dans le protoplasme, ces fines granulations deviennent de plus en plus nombreuses au fur et à mesure que la maturation avance; elles s'agglomèrent pour former dans la graine presque mûre des gouttelettes quelquefois comprimées entre les grains d'aleurone.

Dans le parenchyme profond, l'huile se forme de la même manière; toutefois, elle s'accumule en grande quantité en fin

de maturation, au moment de la déshydratation, formant dans ces cellules de très nombreuses gouttelettes très réfringentes.

Au moment de la déshydratation, nous avons observé dans le protoplasme des zones colorées en orangé par le rouge Soudan, et en gris par l'acide osmique, sans limite distincte; on pourrait supposer que l'huile, quand elle se trouve en grande quantité, puisse se lier aux protides du protoplasme, formant ainsi des cénapses lipo-protéiques, mais qui seraient très fragiles puisque nous avons pu les déceler au moyen des réactifs des lipides; cependant, nous savons que, dans l'albumen du Ricin, d'après les travaux de P. DANGEARD, l'huile et le cytoplasme demeurent toujours distincts et ne se mélangent pas; il est donc probable qu'il en est de même dans le Soja, malgré certaines apparences.

Etude après fixation

Divers stades de maturation de la graine de Soja ont été fixés avec les liquides suivants :

Liquide de REGAUD;

Liquide de TUPA;

Liquide de NAWASCHIN;

Liquide alcool-formo-mercurique de G. MALVESIN-FABRE;

Liquide de BOUIN;

Liquide de BOUIN-HOLLANDE.

Nous avons ensuite effectué des colorations à l'hématoxyline ferrique et à l'hématéine éosine.

C'est la technique REGAUD-hématoxyline ferrique qui nous a donné les meilleurs résultats pour l'ensemble des constituants cellulaires étudiés : vacuome, plastidome et chondriome.

VACUOME

Coloration à l'hématoxyline ferrique. — Les vacuoles de très jeunes embryons ne sont pas chromophiles et ne présentent pas à leur intérieur de précipitations (fig. j, pl. VII); à un stade plus avancé de maturation, nous observons, à l'intérieur des vacuoles en voie de division, la présence de précipités prenant fortement l'hématoxyline et qui sont dus à une coagulation par le fixateur de la matière protéique vacuolaire;

ces précipités révèlent différentes formes suivant le fixateur employé :

a) Fixateurs de REGAUD et alcool-formo-mercurique (fig. k, pl. VII). — Les précipités ont une forme vésiculeuse, ovoïde ou arrondie, de grosseur différente; on les trouve soit à la périphérie, soit au centre des vacuoles.

b) Fixateurs de NAWASCHIN (fig. l, pl. VII). — Les vacuoles grises présentent des précipités qui s'accolent contre leur paroi, en prenant la forme de croissant, épousant ainsi le contour de la vacuole et faisant quelquefois hernie dans le protoplasme.

c) Fixateurs de BOUIN (fig. m, pl. VII). — Les coupes ainsi fixées présentent un caractère particulier de coloration : les cellules épidermiques, internes et externes, et les trois couches de cellules sous-jacentes ont des vacuoles colorées à moitié, la partie colorée se trouvant du côté de l'épiderme externe dans chaque cotylédon.

Très souvent, il arrive que ces précipités émigrent dans le protoplasme environnant les vacuoles (fig. k, pl. VII), ce qui peut faire croire à une origine protoplasmique de ces précipités; il n'en est rien, ce déplacement est uniquement dû à l'entrée dans la cellule du fixateur qui rompt l'équilibre osmotique du suc vacuolaire.

Dans des stades très avancés de maturation, la distinction entre les vacuoles et les précipités disparaît; les vacuoles se colorent totalement en noir, elles représentent les grains d'aleurone définitifs.

Coloration à l'hématéine-éosine. — Elle nous a permis de colorer le noyau et les vacuoles; ces dernières se colorent en rose, le protoplasme restant à peu près incolore; nous avons observé, sur les bords internes des vacuoles, de petits corpuscules incolores qui doivent être considérés comme des artefacts dus au fixateur ou au colorant.

Remarque. — Le fixateur alcool-formo-mercurique de G. MALVESIN-FABRE nous a donné de bons résultats pour la fixation du vacuome.

PLASTIDOME ET CHONDRIOME

Le plastidome a été bien fixé par les liquides de REGAUD, NAWASCHIN, TUPA et BOUIN; ces diverses fixations nous ont

permis de contrôler l'étude faite vitalement ou avec l'emploi du réactif iodo-ioduré (fig. i, k, k', pl. VII).

Les chloroplastes et les plastes amylières sont très nets; ces derniers entourant d'une fine pellicule chromophile les grains d'amidon composés qu'ils contiennent.

Le chondriome est nettement distinct du plastidome; très bien conservé par le liquide de REGAUD, non fixé par le liquide de NAWASCHIN, il est composé de petites granulations et de filaments flexueux chromophiles (fig. k, k', pl. VII).

Cet état de chondriome demeure inchangé pendant toute la maturation.

CERCIS SILIQUASTRUM

La maturation des graines de *Cercis siliquastrum* demande environ deux mois au Jardin Botanique de Bordeaux; aussi, il est facile de suivre l'évolution des constituants cellulaires par de très nombreux prélèvements assez éloignés les uns des autres.

Ces graines sont albuminées, et nous suivrons l'évolution des cellules de l'albumen et des cotylédons; nous verrons que, pendant leur développement, le contenu des cellules est presque le même, et que les membranes des cellules de l'albumen s'épaississent de plus en plus; quand la graine est mûre, l'albumen, peu abondant, est très dur et difficile à couper.

Etude vitale et postvitale

VACUOME

Dans de très jeunes graines d'un poids de 20 à 25 mg., l'observation vitale met en évidence, dans les cellules de l'albumen incolore, une ou deux vacuoles entourées d'un protoplasme riche en inclusions (fig. c, pl. VIII). Le rouge neutre ne permet pas une coloration vitale. Les cotylédons, à ce stade, sont très petits, à peine visibles à l'œil nu, mais cependant déjà verts; leurs cellules sont occupées par de grandes vacuoles que nous n'avons pu colorer vitalement. La technique utilisée : immersion d'un cotylédon entier dans le colorant vital et son observation directe entre lame et lamelle n'a cependant lésé aucune cellule. L'état du vacuome va

ensuite évoluer rapidement; quand la graine atteint un poids de 35-40 mg., les cellules épidermiques cotylédonaire bien différenciées sont occupées par quatre à six vacuoles sphériques colorables vitalement et avec homogénéité en rose par le rouge neutre. Cette coloration vitale a été obtenue en plongeant un morceau de cotylédon pendant trois minutes environ dans une solution de rouge neutre au 1/5.000^e.

Toutes ces cellules épidermiques cotylédonaire, qu'elles se trouvent du côté interne ou externe, renferment un élément aberrant, d'aspect particulier; à première vue, il semble être placé dans le protoplasme, mais il a, en réalité, une origine vacuolaire; généralement situé dans le vacuome, il peut en sortir et émigrer dans le protoplasme sous l'action d'un agent extérieur. Cette inclusion vacuolaire a l'aspect d'une sphère ou d'une tablette.

Nous avons essayé de caractériser cet élément à l'aide de diverses réactions :

1° L'examen d'une coupe tangentielle à l'épiderme au moyen du microscope polarisant, permet de le repérer dans les cellules épidermiques : c'est donc un élément minéral.

2° Action de l'alcool absolu : cet élément est insoluble. L'avantage de ce réactif est de le rendre plus apparent : son aspect est celui d'un oursin ou d'une tablette.

3° Action de l'acide chlorhydrique ou de l'acide azotique dilués au 1/100^e : cet élément est soluble et il ne se dégage pas de bulles gazeuses (absence de carbonates).

4° Action de l'acide sulfurique en solution à 5 p. 100 : l'aspect du cristal se modifie et l'on voit se former au même endroit des amas d'aiguilles qui caractérisent le gypse : ces éléments contiennent du *calcium*.

5° Action de l'acide acétique : le cristal est insoluble.

6° Action d'une solution d'alun de fer ammoniacal à 5 p. 100 : le cristal se solubilise.

7° Action d'une solution chlorhydrique de chlorure de baryum : le cristal se solubilise (absence de sulfates qui donneraient un précipité de sulfate de baryum).

Ces réactions permettent de conclure à la présence d'*oxalate de calcium*.

Situation, nombre et forme des cristaux. — Ils se situent dans la plus grande vacuole de chaque cellule épidermique

cotylédonaire, rarement dans les cellules sous-épidermiques; chaque cellule en contient *un*, parfois *deux*; ils ont la forme d'une macle; quand il y en a deux par cellule, ils se placent dans la même vacuole et le second a l'aspect d'une tablette quadrangulaire (fig. d, e, d', e', pl. VIII).

Dimensions des cristaux. — Elles varient selon que l'on observe l'épiderme interne ou externe du cotylédon :

— Dans l'épiderme externe : les macles ont un diamètre variant de 2,5 à 4 μ ;

— Dans l'épiderme interne : ils ont un diamètre variant de 5 à 7 μ .

Les tablettes mesurent 2,5 à 4 μ (fig. d, e, d', e', pl. VIII).

Coloration vitale des cellules contenant les cristaux. — Les cellules épidermiques se colorent toutes vitalemment par le rouge neutre; la teinte obtenue est rose pour les vacuoles sans oxalate, et rose pâle pour les vacuoles à oxalate, le cristal étant incolore.

Les cellules du parenchyme cotylédonaire contiennent de grandes vacuoles colorables vitalemment avec homogénéité.

La coloration vitale des cellules de l'albumen ne s'effectue pas aussi facilement que celle des cellules cotylédonaires; les membranes cellulaires se colorent en rouge, mais le colorant ne pénètre pas dans la cellule. Pour l'obtenir, il faut un temps de coloration d'au moins vingt minutes; cette tardive coloration est due à l'épaississement accru des membranes des cellules pendant leur formation.

Quand la maturation est assez avancée, les graines très vertes accusent un poids de 40 à 45 mg.; les cellules épidermiques cotylédonaires renferment six à dix vacuoles du côté externe, quatre à huit d'un plus grand volume du côté interne; la vacuole à oxalate est la plus grande de toutes; toutes se colorent vitalemment avec homogénéité (fig. e, e', pl. VIII).

Les cellules du parenchyme sont occupées par de nombreuses vacuoles de taille plus ou moins grande, contenant de petits précipités sphériques animés de mouvements désordonnés (fig. f, pl. VIII); ces précipités prennent intensément le rouge neutre, tandis que la vacuole se colore en rose orangé; il est à noter que le rouge neutre fait apparaître dans ces mêmes vacuoles des précipités plus gros que les précédents; leur différence de taille permet de les différencier des

premiers (fig. g, pl. VIII). Les précipités naturels sont tous situés dans les vacuoles; les précipités dus au rouge neutre sortent parfois de la vacuole et émigrent dans le protoplasme; il ne faut pas leur attribuer pour cela une origine protoplasmique.

La graine, définitivement formée, mais non déshydratée, pèse 50 à 55 mg., l'état du vacuome des cellules diffère peu par rapport à celui observé précédemment.

Lors du dessèchement final, la gousse brunit, le tégument des graines durcit et se tache de points bruns; les vacuoles, plus petites par suite du départ de l'eau, se colorent toutes vitalement en rouge dans l'épiderme, en orangé dans le parenchyme; l'absence de précipité permet de conclure à l'élaboration définitive de l'aleurone (fig. h, i, j, pl. VIII). Dans la graine mûre, l'aleurone se présente dans toutes les cellules sous la forme de grains sans inclusions. Il faut cependant excepter les cellules épidermiques cotylédonaire qui renferment chacune un grain contenant un ou deux cristaux d'oxalate de *calcium*.

La formation de l'aleurone dans les graines de *Cercis siliquastrum* est donc assez précoce puisqu'elle débute un peu avant la phase finale de déshydratation. Cette évolution du vacuome pendant la maturation peut être comparée à celle décrite par P. DANGEARD dans les graines de Pois.

PLASTIDOME

Pendant toute la période de maturation, l'albumen demeure incolore; les cotylédons, au contraire, sont chlorophylliens dès leur apparition; ils restent longtemps verts, puis lors du dessèchement, perdent leur pigment et deviennent jaunes.

Dans un jeune albumen, le plastidome est formé par des plastes sphériques nombreux, incolores; quelques-uns sont très petits et il est assez difficile de les distinguer des mitochondries granuleuses assez abondantes, surtout dans la région du noyau. Certains de ces plastes possèdent une petite inclusion, non colorable par le réactif iodo-ioduré (fig. c, pl. VIII).

Les cellules cotylédonaire contiennent tout au début de petits plastes chlorophylliens, sphériques ou en fuseau (fig. a, pl. VIII).

A un stade plus avancé de maturation, que l'on peut situer un peu avant le début de la déshydratation, les cellules profondes des cotylédons montrent, entre les vacuoles, des leucoplastes et des chloroplastes assez gros; certains d'entre eux se colorent intérieurement en brun-acajou par le réactif iodo-ioduré; cependant, il n'est pas possible d'y apercevoir une inclusion; cette coloration doit être due à la présence diffuse, dans le *stroma* du plaste, d'érythrodextrines; cette présence est fugace puisqu'elle disparaît dès que la déshydratation a commencé.

Les cellules du parenchyme palissadique cotylédonaire contiennent de beaux chloroplastes qui perdent leur pigment en fin de maturation.

Pendant la maturation, le plastidome des graines de *Cercis siliquastrum* est représenté par des chloroplastes et des leucoplastes de diverses tailles, accumulant fugacement des glucides de poids moléculaire peu élevé, tels qu'érythrodextrines.

La graine mûre est caractérisée par l'absence totale d'amidon.

CHONDRIOME

Pendant la maturation, nous avons pu observer vitalement le chondriome dans les cellules profondes des cotylédons; il est formé de mitochondries granuleuses, accompagnées d'abondants filaments de 2 à 4 μ de long (fig. b, pl. VIII); l'extrémité de certains de ces derniers est quelquefois renflée, l'élément prenant l'aspect d'une épingle; le réactif iodo-ioduré ne les colore pas, et l'absence totale d'amidon ne peut les confondre avec des plastes amyliifères; ces éléments doivent être considérés, à notre avis, comme des mitochondries cavulées.

Les très jeunes albumens permettent de bonnes observations du chondriome.

LIPIDES

Au début de la maturation, l'albumen contient dans ses cellules de petits globules très réfringents de 1 à 1,5 μ de diamètre; nous en comptons trois à cinq par cellule; de nombreuses granulations très mobiles les accompagnent. Le

Soudan III colore en orangé les globules, en rouge vif les granulations; l'acide osmique colore en gris les globules, en noir les granulations. Ces éléments sont donc de nature lipidique. Durant toute la maturation, cet état varie peu, il semble toutefois qu'il y ait une légère résorption en fin de maturation.

L'huile des cellules profondes du cotylédon est représentée par de très fines granulations, animées de mouvements browniens qui restent assez rares jusqu'à la déshydratation; pendant la déshydratation terminale, l'huile augmente très rapidement, et les cellules de la graine mûre contiennent deux ou trois globules lipidiques. Les lipides des graines de *Cercis siliquastrum* se forment donc très tardivement, au moment où celles-ci se déshydratent.

Etude après fixation

Divers stades de maturation ont été fixés à l'aide des liquides de BOUIN, HELLY et REGAUD, et colorés par l'hématoxyline ferrique.

Le liquide de REGAUD nous a donné les meilleurs résultats pour l'étude du vacuome.

Les cellules de très jeunes cotylédons sont occupées par de grandes vacuoles non chromophiles, les cellules de l'albumen, par des vacuoles plus petites non chromophiles, mais contenant des précipités sphériques chromophiles; ces précipités représentent la matière protéique de réserve de l'albumen.

A un stade plus avancé, les vacuoles des cellules profondes cotylédonaires accumulent des précipitations de plus en plus abondantes (fig. f, pl. IX).

Pendant la déshydratation, les vacuoles, de plus en plus nombreuses, sont entièrement chromophiles; l'aleurone est alors représenté par des grains colorés en noir par l'hématoxyline, et sans inclusion (fig. g, pl. IX).

Les cellules épidermiques cotylédonaires évoluent de la même manière, la formation de l'aleurone y est cependant plus rapide que dans les cellules profondes. Nous avons pu vérifier la présence, dans les vacuoles, de cristaux d'oxalate de chaux : étant solubles dans les acides assez forts, ils ne sont pas conservés par les fixateurs qui en contiennent; les liquides de BOUIN et de REGAUD les conservent, mais lors du

mordantage des coupes dans les solutions d'alun de fer ammoniacal, au moment de la coloration à l'hématoxyline ferrique, ils se dissolvent. Cependant, la place qu'ils occupaient dans la vacuole est mise en évidence par sa non chromophilie après coloration à l'hématoxyline.

Quand la vacuole n'est pas chromophile, ce qui est le cas dans de très jeunes graines, on ne peut distinguer l'emplacement; dès que la concentration du suc vacuolaire augmente, la vacuole prend une coloration de plus en plus foncée, et le cristal se dessine nettement grâce à la coloration du suc vacuolaire qui l'entoure (fig. c, d, pl. IX).

Divers auteurs ont cru voir une gaine entourant les cristaux d'oxalate de calcium chez les végétaux. Les opinions sont assez diverses quant à la nature; ainsi, pour KUSTER, cette gaine serait une pellicule de protoplasme dégénéré, elle persisterait après le mordantage et serait plus chromophile que le reste du contenu vacuolaire.

Nous n'avons jamais observé, dans l'exemple étudié, de gaine autour du cristal d'oxalate de calcium; le cristal apparaît nu, incolore, et seule la matière protéique vacuolaire qui l'entoure permet de le mettre en évidence grâce à sa chromophilie.

Le plastidome a été bien fixé par les différents liquides utilisés; il est représenté pendant toute la maturation par des petits éléments sphériques, entièrement chromophiles.

Le chondriome, très bien conservé par le liquide de REGAUD, est très distinct du plastidome; nous avons vérifié qu'il était formé de très petites granulations et de filaments ondulés, de 2 à 4 μ de longueur; ces filaments s'épaississent quelquefois en un point de leur longueur, et cet épaississement peut être chromophile ou non (fig. e, e', pl. IX).

Le réactif iodo-ioduré ne colore pas l'épaississement non chromophile; l'absence d'amidon est ainsi vérifiée. De plus, l'absence des plastes amylofères permet, comme en observation vitale, de les considérer comme des mitochondries en dégénérescence ou comme une forme de passage d'un état filamenteux à un état granuleux.

ACACIA DEALBATA

Le genre *Acacia* est le principal représentant des Légumineuses Mimosées; il renferme à lui seul plus de 450 espèces qui se rencontrent particulièrement à l'état spontané dans les régions subtropicales et tempérées chaudes des différentes parties du globe. La plupart appartiennent à l'Australie qui en compte plus de 350; nombreuses d'entre elles sont susceptibles de s'adapter au climat méditerranéen et, en particulier, l'Est du midi de la France en est abondamment pourvu.

Ce genre est devenu très important en horticulture; en effet, les rameaux de quelques-unes de ses espèces possèdent de très belles parures florales qui, vulgairement, ont été appelées « Mimosas », et c'est en particulier l'*Acacia dealbata* (en horticulture : *Mimosa dealbata*) qui est la plus rencontrée et la plus cultivée.

L'*Acacia dealbata* est un arbre qui fleurit sur la Côte d'Azur dès le mois de décembre; cette floraison dure environ deux mois; les fruits, qui sont de longues et minces gousses, se forment très rapidement, et les graines qu'elles contiennent se développent lentement; la maturité est atteinte vers le mois de mai.

Il est intéressant de remarquer que les Mimosas sont très différents entre eux quand on considère leur floraison et leur fructification : ainsi, l'*Acacia retinoides* fleurit plus tardivement et donne des gousses en l'espace de quelques jours; les graines se forment et se dessèchent en quatre-cinq jours au plus.

Grâce à leur très longue période de maturation, les graines d'*Acacia dealbata* nous ont permis de bien suivre la formation de leurs constituants cellulaires.

Etude vitale et postvitale

VACUOME

Dans de très jeunes cotylédons incolores de 2 mm. de longueur, les cellules sont occupées par de grandes vacuoles entourées d'une étroite bande de protoplasme (fig. a, pl. X). Ces cellules n'ont pu être colorées vitalement avec une solu-

tion de rouge neutre au 1/5.000^e (il est intéressant de remarquer que, dans chaque exemple étudié, nous avons obtenu le même résultat quant à la coloration vitale de très jeunes cellules).

Quand les cotylédons commencent à verdier, ils sont encore très petits puisqu'ils mesurent tout au plus 3 à 3,5 mm.; nous observons, dans les cellules épidermiques (fig. b, pl. X), deux, trois, quatre vacuoles homogènes séparées par des tractus protoplasmiques; les cellules profondes sont occupées par de grandes vacuoles homogènes (fig. c, pl. X). Le rouge neutre nous a permis de les colorer vitalement; les petites vacuoles des cellules épidermiques se colorent en rouge, les plus grandes en rose, ainsi que les vacuoles des cellules profondes.

Au fur et à mesure que les cotylédons grandissent, la division vacuolaire dans les cellules épidermiques s'active; vers le 15 avril (date qui correspond à la mi-maturité sur la Côte-d'Azur, où cette étude a été faite), on peut compter jusqu'à dix vacuoles par cellule épidermique (fig. e, pl. X), tandis que, dans les cellules profondes (fig. f, pl. X), la fragmentation en est à son début. Toutes ces vacuoles sont homogènes et se colorent vitalement sans qu'il y ait précipitation. En quelques jours, la division vacuolaire dans l'épiderme atteint son maximum : vingt-cinq à trente vacuoles sphériques, très petites, peuvent être comptées par cellule, toutes se colorent en rouge vif par le rouge neutre; ces vacuoles peuvent être considérées comme les futurs grains d'aleurone dans la graine mûre. Nous pouvons d'ores et déjà assurer que l'aleurone, dans les cellules épidermiques, se forme pendant la formation de la graine et qu'il l'est définitivement avant toute déshydratation.

Dans les cellules du parenchyme cotylédonaire, l'évolution du vacuome est toujours lente; peu à peu, la division vacuolaire s'effectue, la coloration vitale fait apparaître dans les vacuoles de petits précipités sphériques colorés en rouge vif (fig. g, pl. X). Cette formation intravacuolaire d'éléments figurés est due à l'instabilité, sous l'action du rouge neutre, de la matière protéique qui s'élabore dans le vacuome et qui précipite. Cette hétérogénéité, dans l'aspect du vacuome des cellules profondes colorées vitalement, indique le début de la formation de l'aleurone. Une étude suivie de cette évolution

est nécessaire pour éviter toute erreur d'interprétation; en effet, il arrive très souvent que les globules précipités dans les vacuoles émigrent dans le protoplasme par suite d'une rupture de l'équilibre osmotique du vacuome sous l'influence du rouge neutre. Une coloration vitale isolée peut ainsi attribuer une origine protoplasmique à l'aleurone.

En observation vitale, cet aspect n'existe pas, puisque ces précipités ne sont pas naturels. De plus, nous n'avons jamais observé, sans colorant, de précipités anormaux dans le protoplasme.

Cette précipitation, due au rouge neutre, précède la déshydratation terminale; en effet, peu après, le tégument de la graine commence à brunir, les vacuoles des cellules profondes se divisent et se colorent intensément en rouge orangé sans précipitation (fig. j, pl. X).

Ainsi, la présence de précipités vacuolaires provoqués par le colorant vital est un signe précurseur de la formation des grains d'aleurone dans le parenchyme cotylédonaire; cette formation est assez tardive puisqu'elle commence au moment de la déshydratation. Elle peut être rapprochée de celle décrite par P. DANGEARD dans les graines de Fève et de Haricot.

PLASTIDOME

Dans de très jeunes embryons incolores, le plastidome est représenté par de petits plastes sphériques, sans inclusions apparentes. Rapidement, ces embryons verdissent, les plastes prennent une teinte vert pâle; le plastidome est alors formé de leucoplastes et de chloroplastes à peine plus gros.

Quand les embryons atteignent 3-3,5 mm. de longueur, ils sont alors très verts, les plastes se divisent activement et augmentent de volume, certains d'entre eux présentent à leur intérieur de minuscules inclusions sphériques à peine visibles quand on les observe à l'aide de l'objectif à immersion. Ces inclusions réagissent différemment avec le réactif iodo-ioduré (fig. d, d', pl. X); dans une même cellule, certaines se colorent en brun acajou, d'autres en bleu noir; quelques-unes restent incolores, ces dernières sont généralement les plus petites et ne peuvent être observées que dans des chloroplastes assez

volumineux; il est donc possible qu'il en soit de même dans les très petits plastes.

Comme l'a soutenu P. DANGEARD, il est possible que le grain d'amidon soit précédé d'une inclusion incolore au moment de sa formation.

Cette inclusion incolore, vraisemblablement formée de sucres simples ou de dextrines, est ensuite le siège d'une formation très fugace d'érythro-dextrines : le réactif iodé permet quelquefois de saisir ces produits transitoires grâce à la coloration brun acajou qu'ils prennent à son contact, avant d'être remplacés définitivement par de l'amidon.

Cette observation confirme aussi l'opinion de MAIGE, selon laquelle l'amylogénèse, comme l'amyolyse, passe par les mêmes stades, et notamment les stades dextrine et érythro-dextrine.

Quand la maturation est très avancée, nous observons dans les cellules parenchymateuses de nombreux plastes amyli-fères et chlorophylliens volumineux (fig. g, pl. X). Toutes leurs inclusions se colorent en bleu noir par le réactif iodo-ioduré; chaque plaste n'en contient qu'une. Il est intéressant de remarquer que, dans le parenchyme cotylédonaire, à mesure que l'on s'approche de l'épiderme, les chloroplastes deviennent de plus en plus nombreux, tandis que les grains d'amidon se raréfient.

En fin de maturation, au moment du dessèchement final, la chlorophylle disparaît; l'amidon existant ne semble pas se résorber dans l'ensemble; il disparaît seulement dans les cellules sous-épidermiques.

CHONDRIOME

Dans l'étude vitale, nous avons surtout observé le chondriome au moment où apparaissent dans les petits chloroplastes des très jeunes embryons, les inclusions colorables ou non par le réactif iodo-ioduré (fig. c', pl. X). Il est formé de mitochondries granuleuses et d'éléments flexueux, nettement distincts des petits chloroplastes en voie d'une active amylogénèse. Nous n'avons jamais noté d'inclusions dans ces organites.

LIPIDES

Dans de très jeunes embryons, les cellules ne contiennent pas d'éléments réfringents, même très petits, susceptibles d'être de nature lipidique. Le rouge Soudan et l'acide osmique nous ont confirmé ce résultat.

Quand les cotylédons commencent à verdier, quelques petites granulations lipidiques apparaissent dans le protoplasme des cellules parenchymateuses; dès ce moment, les granulations vont sans cesse se multiplier jusqu'à la formation complète de la graine, mais ce n'est qu'au moment de la déshydratation terminale que de petits globules apparaissent.

Ainsi, pendant la maturation de la graine d'*Acacia dealbata*, l'huile se forme progressivement; elle ne devient importante, cependant, qu'en fin de maturation; pour l'expliquer, on ne doit pas cependant invoquer la légère résorption de l'amidon qui se produit en fin de maturation.

CYTOLOGIE DE LA GRAINE MURE D' « ACACIA DEALBATA »

Les observations suivantes ont été réalisées sur une graine mûre après un passage de trente minutes sur coton mouillé.

VACUOME

Le vacuome est représenté dans cette graine dénuée d'albumen par des grains d'aleurone de structure homogène, de dimensions différentes selon la cellule considérée, tous colorables vitalement par le rouge neutre :

Cellules épidermiques. — Elles contiennent vingt à trente petits grains sphériques, de taille inférieure à celle du noyau; certains d'entre eux ressemblent à des plastes, mais ils s'en différencient grâce à la teinte rouge qu'ils prennent en coloration vitale.

Cellules sous-épidermiques. — Les dimensions des grains d'aleurone y sont intermédiaires entre celles des grains des cellules épidermiques et celles des cellules profondes (fig. i, pl. X). Nous pouvons en compter dix à douze par cellule; nous y avons quelquefois observé, en présence de rouge neutre, des précipités rouge vif en forme de croissant, mais

nous avons constaté que la coloration n'était plus vitale, puisque le noyau se colorait; cette pseudo-précipitation est donc le signe d'une surcoloration.

Cellules profondes. — Le rouge neutre y colore uniformément en rose orangé trois à sept gros grains (qu'il serait préférable ici d'appeler vacuoles aleuriques à cause de leur aspect).

PLASTIDOME

Cellules épidermiques. — Entre les grains d'aleurone, nous observons de très petits éléments incolores représentant des leucoplastes. L'amidon y fait totalement défaut.

Cellules parenchymateuses. — Dans les étroites bandes de protoplasme entourant les grains d'aleurone, se situent dix à vingt grains d'amidon simples à *stroma* plastidial incolore et difficilement visible. Ils sont accompagnés de quelques leucoplastes de moindre dimension (fig. j, pl. X).

CHONDRIOME

Il ne nous a pas été possible de l'observer dans la graine mûre.

LIPIDES

Les cellules parenchymateuses contiennent de petites granulations lipidiques animées de mouvements désordonnés. Ces granulations sont accompagnées de quelques petits globules très réfringents, colorables en orangé par le rouge Soudan.

Etude après fixation

Les graines d'*Acacia dealbata* en formation ont été fixées à l'aide des liquides de BOUIN, NAWASCHIN et REGAUD.

VACUOME

L'évolution du vacuome a été suivie avec succès grâce au liquide de REGAUD qui s'en est montré un bon fixateur.

Dans de très jeunes embryons (fig. e, pl. VI), les cellules sont occupées par de grands espaces incolores représentant les vacuoles à contenu très dilué et non chromophile; elles

sont par conséquent très peu riches en protides. Cet état univacuolaire subsiste assez longtemps dans le parenchyme puisqu'on le retrouve dans un embryon à moitié développé et très chlorophyllien (fig. f, pl. XI).

Peu avant maturité, le vacuome se divise; des précipités très chromophiles s'observent dans les vacuoles incolores (fig. g. pl. XI); ils représentent la matière protéique coagulée sous l'action du fixateur. Ces précipités intravacuolaires émigrent souvent dans le protoplasme par suite d'un déséquilibre osmotique dû à l'entrée du fixateur; il ne faut pas pour cela leur donner une origine protoplasmique.

Dans la graine mûre (fig. k, pl. XI), les grains d'aleurone sont représentés par de gros globules peu nombreux, colorés en gris sombre par l'hématoxyline.

PLASTIDOME

Le plastidome est formé tout au début par des organites très chromophiles (fig. e', pl. XI) qui grossissent par la suite et se creusent d'une cavité, représentant, à un état avancé de maturation, un grain d'amidon (fig. f, pl. XI); le *stroma* plastidial qui entoure le grain s'amincit, au point de disparaître quelquefois ou d'être réduit à une petite calotte (fig. g, pl. XI). Dans la graine mûre, les grains d'amidon semblent nus, ou du moins, si le *stroma* plastidial existe, il est si fin qu'il nous est souvent impossible de l'apercevoir (fig. h, pl. XI).

CHONDRIOME

Dans un très jeune embryon, le chondriome, fixé au liquide de REGAUD, nous a paru formé de fines granulations et de filaments chromophiles quelquefois renflés à leur extrémité; il nous est impossible, à ce stade, de reconnaître ce qui revient au plastidome quant aux petites granulations; cependant, les chloroplastes, d'un volume plus important, sont déjà bien différenciés (fig. e, e', pl. XI).

Dans un embryon dont la maturation est plus avancée, le chondriome est nettement distinct du plastidome, formé de chloroplastes et d'amyloplastes de plus fortes dimensions; les petites granulations et les filaments qui le constituent ne présentent pas de modifications et demeurent inchangées (fig. f, f', pl. XI).

ALBIZZIA JULIBRISSIN

Nous avons suivi l'évolution des graines d'*Albizzia Julibrissin* depuis leur formation jusqu'au terme final de la déshydratation. Pour des graines étudiées en 1948, à Bordeaux, la maturation a commencé vers le 15 août et s'est terminée fin septembre. Dans de très jeunes graines de 2,5 mm. environ de longueur, les deux petits cotylédons à peine formés, de 0,5 mm. de long sur 0,2 mm. de large, sont incolores et sont entourés d'un petit albumen, incolore et aqueux. Au fur et à mesure de la maturation, l'albumen se résorbe au profit des cotylédons qui grossissent et verdissent très rapidement; quand ces derniers se sont développés au maximum et au moment où commence la déshydratation (celle-ci est très rapide et dure en moyenne trois jours), les téguments brunissent; le verdissement cotylédonaire s'estompe et, en fin de maturation, la graine est devenue très dure, ses cotylédons accusant une teinte légèrement verte.

Etude vitale et postvitale

VACUOME

Son évolution est très facile à suivre, car l'augmentation de volume de la graine pendant sa maturation est très régulière. On peut, pour repérer chaque stade étudié, se servir du poids des graines; c'est ici un test très sûr.

Dans une graine à peine formée, d'un poids moyen de 2,5 mg., le vacuome est représenté, dans chaque cellule de l'albumen, par trois à quatre petites vacuoles rondes entourées d'un protoplasme peu dense et très aqueux. Chaque cellule cotylédonaire est occupée par une grande vacuole (fig. a, pl. XII).

Nous avons essayé de colorer vitalement ces cellules à l'aide du rouge neutre; nous n'y avons pas réussi malgré de nombreux essais en utilisant des dilutions très grandes du colorant : 1/20.000^e et 1/30.000^e dans de l'eau distillée; si la coloration vitale du vacuome ne s'effectue pas, le noyau se colore sensiblement en rose; la coloration est donc postvitale.

Les essais effectués aux mêmes concentrations, mais avec une solution de rouge neutre rendue isotonique au suc cellulaire, avec du saccharose, nous ont donné les mêmes résultats. Il se confirme que les cellules de très jeunes graines sont très sensibles à l'action du rouge neutre, et que même des solutions très diluées de ce colorant ne permettent pas de les colorer vitalement.

Sur des embryons pesant 18 à 20 mg., nous n'observons pas de changement notable dans l'allure générale du vacuome (fig. b, pl. XII). Nous avons effectué de nouveaux essais de coloration vitale; avec la technique habituelle et avec des concentrations de rouge neutre usuelles, il nous a été impossible de l'obtenir.

Nous avons préparé extemporanément des dilutions au $1/20.000^e$, $1/25.000^e$ et $1/30.000^e$ dans de l'eau distillée; nous avons utilisé un temps de coloration variant de cinq à vingt minutes. Les essais ont été effectués sur les cellules épidermiques cotylédonaire, en faisant des coupes tangentielles de cotylédons immergés dans les solutions.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

CONCENTRATION DE LA SOLUTION	TEMPS DE COLORATIONS			
	5 minutes	10 minutes	15 minutes	20 minutes
$1/5.000^e$	col. postvita ^{1e}	col. postvita ^{1e}	col. postvita ^{1e}	col. postvita ^{1e}
$1/10.000^e$	col. postvita ^{1e}	col. postvita ^{1e}	col. postvita ^{1e}	col. postvita ^{1e}
$1/20.000^e$	col. postvita ^{1e}	col. postvita ^{1e}	col. postvita ^{1e}	col. postvita ^{1e}
$1/25.000^e$	o. col.	col. vitale	col. vitale	col. postvita ^{1e}
$1/30.000^e$	o. col.	col. vitale	col. vitale	col. postvita ^{1e}

De ce tableau, il ressort qu'il faut opérer avec une solution de rouge neutre au $1/25.000^e$ ou au $1/30.000^e$ pour colorer vitalement les cellules à ce stade. Le temps de coloration doit être au moins de dix minutes, mais ne doit pas dépasser quinze minutes, sinon la cellule est tuée. Nous avons remplacé

le rouge neutre par le bleu de méthylène, nous avons vérifié que ce dernier était plus toxique, puisqu'aux mêmes concentrations et avec la même technique, la coloration n'était plus que postvitale.

Dans des graines plus âgées, d'un poids moyen de 40 mg., l'aspect vacuolaire change; les cellules épidermiques cotylédonaire contiennent quatre à six petites vacuoles séparées par de fins tractus cytoplasmiques (fig. d, pl. XII). Les cellules parenchymateuses sont occupées par de grandes vacuoles entourées d'une bande assez épaisse de protoplasme (fig. e, pl. XII).

Toutes ces cellules se colorent vitalemment, avec la technique habituelle; toutes les vacuoles sont homogènes et elles ne donnent lieu à aucune précipitation naturelle ou artificielle.

Quand le poids des graines atteint environ 70 mg., les cotylédons sont très verts et l'albumen est devenu inexistant. Les cellules de l'épiderme cotylédonaire sont occupées par une dizaine de petites vacuoles rondes ou ovales (fig. h, pl. XII). Les cellules profondes ont un protoplasme très granuleux et très dense, et un vacuome peu développé, formé de deux à cinq vacuoles rondes (fig. g, pl. XII). Toutes ces vacuoles se colorent vitalemment avec homogénéité par le colorant vital; en observation vitale, le vacuome des cellules parenchymateuses est difficile à apercevoir, et seule la coloration vitale permet de le déceler.

Les cellules mères des cellules stomatiques, très distinctes des cellules épidermiques cotylédonaire, par leur forme et par leur orientation (fig. h, pl. XII), se colorent en orangé par le rouge neutre, leur réaction tend vers l'alcalinité, ce qui les rapproche des cellules profondes cotylédonaire.

Lorsque la phase de formation est terminée, les graines accusent un poids d'environ 75-80 mg.; elles sont vertes, leur teneur en eau est maximum, les téguments n'ont pas encore bruni.

L'aleurone est définitivement formé dans les cellules cotylédonaire épidermiques et parenchymateuses, sa répartition est la suivante :

Cellules épidermiques externes : 15 à 30 grains sphériques, dont le diamètre varie de $0,5\ \mu$ à $2,5\ \mu$;

Cellules épidermiques internes : 6 à 15 grains plus gros, de 3μ à 7μ de diamètre;

Cellules mères des cellules stomatiques : 15 à 30 grains sphériques, de $0,2\mu$ à 2μ de diamètre;

Cellules parenchymateuses : 5 à 8 grains de forme variable, dont les dimensions extrêmes vont de 4μ à 13μ environ, accompagnés de très petits grains assez nombreux, de $0,5\mu$ à 2μ de diamètre.

Tous ces grains d'aleurone prennent intensément le rouge neutre, ce qui indique une concentration très élevée; la coloration est homogène, la matière protéique qui les constitue presque totalement est donc ici très stable.

A un stade ultérieur, pris pendant la déshydratation terminale, l'état précédent reste inchangé, nous observons seulement une diminution de volume des grains, surtout dans les cellules épidermiques, due à la déshydratation en cours. Tous se colorent vitalement avec homogénéité (fig. i, j, k, l, pl. XII).

La formation de l'aleurone dans les graines d'*Albizzia Julibrissin* est donc classique; commencée avant la déshydratation, elle se termine avec elle. L'absence totale, ici, de précipitations durant cette formation, nous permet d'affirmer, contrairement à WIELER, que l'aleurone prend naissance dans les vacuoles des graines au cours de leur développement et non *de novo* dans le protoplasme.

PLASTIDOME

Dans de très jeunes embryons de 3 à 4 mm. de longueur, l'albumen incolore est représenté par quelques couches de cellules; celles-ci contiennent un abondant plastidome composé d'organites incolores, sphériques, assez gros. Ces leucoplastes renferment des inclusions colorables en brun acajou par le réactif iodo-ioduré; cette coloration indique la présence d'érythrodestrine dans les plastes. La condensation des sucres en amidon dans l'albumen n'est donc pas instantanée.

Les cotylédons, à peine visibles puisqu'ils mesurent 0,5 mm. de longueur, ont été séparés délicatement de l'albumen et observés directement entre lame et lamelle, sans avoir été coupés. Le plastidome (fig. a, pl. XII), dans les cellules, y est

représenté par de très petits plastes sphériques, incolores; parmi eux, certains possèdent une inclusion, décelable grâce au réactif iodo-ioduré qui la colore en brun acajou ou en bleu noir; l'élaboration de l'amidon dans les cotylédons est très précoce et s'effectue avant qu'il y ait de la chlorophylle.

Peu de temps après, le verdissement commence. Dans un cotylédon de 0,8 mm. de longueur, les plastes ont rapidement grossi, de très beaux chloroplastes peuvent s'observer dans les cellules sous-épidermiques et dans les cellules profondes (fig. b, pl. XII).

L'observation vitale nous signale la présence, à côté des chloroplastes, de plastes contenant une inclusion; cette dernière est colorable en brun acajou ou en bleu noir par le réactif iodo-ioduré, selon le plaste étudié, et quelquefois même n'est pas colorable (fig. b, pl. XII).

Ainsi, dans une même cellule, nous pouvons, grâce au réactif iodo-ioduré, mettre en évidence trois stades successifs dans la condensation des sucres simples au niveau des plastes :

1° Inclusion non colorable par le réactif iodo-ioduré : vraisemblablement formée d'oses ou d'osides de poids moléculaire peu élevé;

2° Inclusion colorable en brun acajou par le réactif iodo-ioduré : formée d'érythroextrine;

3° Inclusion colorable en bleu noir : formée d'amidon.

A mesure que la maturation avance, les plastes amylofères se divisent et augmentent de volume (fig. e, pl. XII); dans les cellules les plus externes du parenchyme cotylédonaire, il est possible d'y observer de nombreux petits chloroplastes, à côté de gros chloroplastes amylofères.

Les précédentes réactions faites à l'aide du réactif iodo-ioduré sur les plastes sont ici négatives; seule la coloration bleu noir est obtenue, les sucres se sont polymérisés à leur maximum et se trouvent maintenant sous une forme stable : l'amidon.

En fin de maturation, le verdissement cotylédonaire s'estompe, l'amylogenèse suit son cours : les cellules épidermiques élaborent sept à huit petits grains d'amidon; dans les cellules profondes, les grains d'amidon formés se placent en chaînettes; leur *stroma* plastidial est très réduit (fig. g, pl. XII).

Quand la graine est complètement déshydratée, l'aspect du plastidome reste le même. Toutefois, nous avons remarqué un début de résorption des grains d'amidon dans les cellules épidermiques qui n'en contiennent plus que deux à quatre.

CHONDRIOME

Son étude vitale pendant la maturation est délicate; dans de très jeunes embryons (fig. f, pl. XII), sans l'emploi de colorant, nous avons décelé de très fines et nombreuses granulations peu réfringentes, accompagnées de rares petits bâtonnets parfois ondulés, de longueur moyenne. Ces deux catégories d'éléments représentent le chondriome, leur morphologie les éloigne des éléments du plastidome; ces derniers étant plus volumineux et élaborant pour la plupart de l'amidon.

LIPIDES

L'observation directe sans colorant révèle, dans les cellules de l'albumen aqueux, quelques granulations très réfringentes, mobiles, entraînées par les mouvements cytoplasmiques; elles sont colorables en rouge par le rouge Soudan et brunissent par l'acide osmique. Dans les très jeunes cotylédons, nous observons les mêmes éléments. Quand la maturation est plus avancée, ces fines granulations ont tendance à se placer le long des limites vacuolaires; le rouge Soudan met très bien en évidence ces longs chapelets entourant les vacuoles. Par la suite, ces granulations sont de plus en plus nombreuses, mais ne se fusionnent que lorsque la dessiccation commence. Dans une graine presque mûre, les cellules profondes contiennent, à côté des grains d'aleurone et des grains d'amidon, des globules d'huile dont le diamètre peut atteindre 4μ ; cette augmentation du taux d'huile en fin de maturation ne peut être corrélative à la très faible diminution du taux d'amidon dans les cellules épidermiques observées à la même époque.

Etude après fixation

Nous avons effectué sur ce matériel des fixations à l'aide des liquides de NAWASCHIN, BOUIN et REGAUD. Ces trois fixateurs nous ont donné des images assez fidèles du plastidome;

le liquide de BOUIN a bien fixé le vacuome, mais c'est le liquide de REGAUD qui nous a le mieux conservé tous les éléments cellulaires étudiés. Dans de jeunes graines, les vacuoles sont représentées par de grands espaces incolores sans produit figuré chromophile; dans des graines plus âgées, ces vacuoles voient leur chromophilie augmenter; la coloration grise qu'elles prennent s'accroît sans toutefois montrer d'hétérogénéité dans le contenu vacuolaire.

L'augmentation de la concentration en matières protéiques des vacuoles s'effectue sans précipitations. Ainsi, cet aspect confirme ce que l'observation et la coloration vitales nous avaient permis d'observer, à savoir : la stabilité de la matière protéique vacuolaire vis-à-vis d'agents extérieurs. Cette absence de précipitations nous permet de bien vérifier l'origine vacuolaire de l'aleurone.

Les plastes sont abondants dès la naissance des cotylédons; l'hématoxyline les représente comme de petits éléments très chromophiles qui ne tardent pas à présenter une inclusion incolore qui grossit au fur et à mesure que la maturation avance. Dans une graine presque mûre, l'enveloppe plastidiale des grains d'amidon est réduite à un fin liseré chromophile; nous n'avons pas observé ici de forme dégénéréscente (fig. i, pl. XIII).

Le chondriome est représenté de bonne heure par de très nombreuses granulations et de petits bâtonnets, quelquefois empâtés par l'hématoxyline; le liquide de REGAUD les conserve bien (fig. i, pl. XIII), et la confusion ne peut être faite avec les éléments du plastidome déjà individualisés, élaborant précocement de l'amidon; il n'est pas conservé par les fixateurs de BOUIN et de NAWASCHIN.

CHAPITRE II

GERMINATIONS

CYTISUS ALPINUS

Les graines de *Cytisus alpinus* germent très facilement; il suffit de les placer sur du papier filtre ou du coton imbibé d'eau; une lésion des téguments n'est pas nécessaire. La germination est conduite régulièrement dans l'étuve électrique, à la température de 22-23°. L'imbibition est lente; après quatorze heures, la graine est encore dure, mais après vingt-quatre heures, elle a doublé de volume. Après soixante-douze heures, les téguments craquent, mettant à nu une partie des cotylédons d'une couleur jaune pâle; la radicule s'allonge et atteint 1 à 2 cm. après six jours de germination. Dès ce moment, les cotylédons commencent à verdier, tandis que l'axe épicotylé s'accroît.

L'aspect de la plantule, après dix jours, est le suivant : cotylédons séparés, minces, vert pâle; radicule : 3,5 cm.; tigelle : 1,5 cm.

Etude vitale et postvitale

VACUOME

Lors de l'étude de la maturation, nous avons vu que les cellules parenchymateuses d'un cotylédon mûr sont remplies de grains d'aleurone très variables par la taille et la forme (ovale, sphérique ou polygonale), tandis que ceux des cellules épidermiques sont très nombreux, sphériques et d'un volume à peu près uniforme.

Tous sont de structure homogène. Toutefois, certaines cellules, et très souvent les cellules épidermiques, paraissent posséder des grains d'aleurone à structure hétérogène; une inclusion, de la forme d'un gros globule moins réfringent ou d'un croissant épais, s'accole contre la paroi du grain; cet aspect est conservé par la coloration vitale et les inclusions y sont surcolorées (fig. h, pl. I). Il s'observe surtout chez des graines assez âgées (un à deux ans) que l'on a mis à gonfler dans l'eau pendant une à deux heures avant de les observer. L'aleurone ne présente cependant pas ici une structure hétérogène; une autre explication doit donc être donnée de cette particularité. Il faut remarquer qu'une observation microscopique sans milieu aqueux interposé est très difficile et ne peut être réalisée avec beaucoup de netteté; les tissus d'une graine mûre sont par définition des tissus desséchés qu'on ne peut étudier qu'en milieu liquide généralement aqueux. Cette arrivée d'eau dans les cellules les imbibe lentement; les grains d'aleurone, constitués de protides avec excès de globulines, s'imbibent ici très lentement. L'hydratation n'est pas instantanée comme dans les autres graines, et les inclusions que nous observons ici dans l'aleurone représentent la matière aleurique desséchée entourée d'une zone hydratée de moindre concentration. Les inclusions se colorent vitalemment, par le rouge neutre, en rouge vif, tandis que la zone qui les entoure prend une teinte rose.

Après quatorze heures de germination, les grains d'aleurone sont bien gonflés, et leurs inclusions diminuent de volume par suite de leur hydratation. Après quarante-huit heures (fig. a, pl. II), ces inclusions sont encore présentes, mais très rapidement elles vont se solubiliser; au bout de sept jours de germination, elles ont complètement disparu.

Parallèlement, l'évolution des grains d'aleurone en vacuoles s'effectue normalement : dans les cellules épidermiques, la transformation est rapide, le stade univacuolaire étant très vite atteint. Dans les cellules profondes, l'évolution est plus lente, la fusion des grains d'aleurone se fait lentement, par étapes successives, et on peut souvent observer à côté de grandes vacuoles d'autres plus petites et plus nombreuses, représentant encore des grains d'aleurone gonflés; les grandes vacuoles se colorent en rose pâle par le rouge neutre, les

petites prennent une teinte rose vif, quelquefois hétérogène, quand la partie non encore hydratée persiste.

Il arrive fréquemment que le colorant vital provoque la formation de précipités, qu'il est difficile de distinguer des précipités préformés. Tous ces précipités, quelle que soit leur origine, disparaissent après huit jours de germination; cette disparition permet d'assurer que la matière protéique de réserve a été entièrement utilisée par la jeune plantule.

Cellules stomatiques. — Dans l'épiderme externe cotylédonaire, les jeunes cellules stomatiques se distinguent nettement des cellules épidermiques voisines par leur forme et par l'évolution de leur contenu, en particulier du vacuome. Au cours de la germination, leurs grains d'aleurone se colorent vivement en rose orangé, tandis que, dans les cellules épidermiques voisines, ils prennent une teinte rouge vif, c'est un indice d'une légère alcalinité qui les rapproche des cellules profondes. Leur évolution est plus longue, et les cellules stomatiques sont complètement différenciées après six jours de germination.

PLASTIDOME

La graine mûre de *Cytisus alpinus* possède des cotylédons d'un jaune pâle, le pigment chlorophyllien et l'amidon en sont absents. Entre les grains d'aleurone des cellules parenchymateuses se situent quelques petits plastes sphériques, incolores et non colorables par le réactif iodo-ioduré (fig. i, pl. I). Dans les cellules épidermiques, les plastes sont difficiles à observer à cause de l'abondance des grains d'aleurone. Quand débute la germination, le tableau général du plastidome ne change pas; les plastes des cellules épidermiques sont mieux observables. Ils ne se décèlent cependant qu'en faisant constamment varier la vis micrométrique du microscope.

Lorsque le tégument de la graine éclate et que la radicule atteint 1,5 cm. de longueur, les cotylédons commencent à verdifier. Les plastes des cellules épidermiques grossissent et accumulent un peu d'amidon; dans les cellules profondes, ils sont en pleine évolution; ils grossissent activement et s'observent aisément grâce à leur couleur vert pâle; ils élaborent en même temps de l'amidon, car le réactif iodo-ioduré met en

évidence de petites inclusions qui se colorent très souvent en brun acajou (coloration caractéristique de la présence d'érythro-dextrine). Cette coloration disparaît par la suite, toutes les inclusions se teignant en bleu noir par l'iode; elles sont donc formées d'amidon.

Nous avons remarqué que l'amidon (ou l'érythro-dextrine) se formait d'abord dans les plastes les plus petits, encore incolores, et qu'ensuite le *stroma* plastidial grossissait et verdissait avant que l'amidon augmente de volume. Ainsi la formation d'amidon précéderait le verdissement.

Quand l'assimilation chlorophyllienne est bien avancée, grâce aux cotylédons jouant le rôle de feuilles assimilatrices, les cellules du parenchyme palissadique voient leur activité s'accroître; de très nombreux chloroplastes s'y divisent et forment des chaînettes ou des amas (fig. c, c', pl. II). La forme en haltère d'un plaste en division y est fréquente.

L'amidon est surtout abondant dans les cellules profondes, mais il reste toujours à l'état de petits grains dans les plastes.

CHONDRIOME

Nous l'avons observé vitalement, sans l'emploi du vert Janus. Après trois et sept jours de germination (fig. e', pl. II), il nous a paru formé de mitochondries granuleuses, incolores, et de fins bâtonnets légèrement ondulés.

Lors de la maturation, le chondriome avait le même aspect; cette similitude permet de le considérer comme un élément cellulaire, constant, indépendant et n'évoluant plus.

HUILE

La graine mûre de *Cytisus alpinus* se caractérise par un taux d'huile assez élevé, comme le montrera l'analyse chimique. Situés principalement dans les cellules parenchymateuses cotylédonaire, les lipides se trouvent sous forme de gros globules réfringents et de fines granulations colorables par le rouge Soudan et l'acide osmique. Les cellules épidermiques en contiennent relativement moins, sous forme de petites gouttelettes.

Jusqu'au quatrième jour de germination, les globules lipidiques subsistent et il ne semble pas que leur teneur ait varié; l'étude chimique le prouvera. Toutefois, dans les cellules

épidermiques, nous n'observerons plus que de très fines granulations.

Après huit jours de germination, la constitution de la graine s'est bien modifiée : les gros globules lipidiques ont disparu; on observe dans le protoplasme des cellules parenchymateuses, de petites gouttelettes et de très nombreuses granulations, mobiles, de nature lipidique.

Etude après fixation

Nous avons fixé le matériel germé avec les liquides de BOUIN, NAWASCHIN et REGAUD. Les meilleurs résultats nous ont été donnés par la méthode de REGAUD pour le vacuome, le plastidome et le chondriome.

Dans la graine mûre, les grains d'aleurone sont représentés par de gros globules uniformément chromophiles (fig. i, pl. II); au début de la germination, l'aspect hétérogène des grains d'aleurone, observé vitalement, a bien été fixé par le liquide de REGAUD (fig. i, pl. II), la matière protéique non hydratée apparaît colorée en noir par l'hématoxyline sur un fond vacuolaire incolore. Cet aspect disparaît peu à peu; dans des stades très avancés, les vacuoles montrent bien rarement des précipitations internes (fig. k, pl. II). Vers le dixième jour, les vacuoles, vides de toute substance protéique de réserve, sont alors toutes devenues incolores.

Le plastidome est très réduit dans la graine mûre; le liquide de REGAUD fixe quelques petits organites sphériques, chromophiles, représentant les leucoplastes (fig. i, pl. II). Les grains d'amidon observés pendant la maturation se sont complètement résorbés.

Pendant la germination, les plastes évoluent peu tout d'abord. Ils se divisent et grossissent ensuite, dans le parenchyme palissadique en particulier. L'amidon s'élabore surtout dans les plates des assises profondes, mais il reste toujours à l'état de petits grains (fig. k, pl. II). Nous n'avons pu, vu leur taille, les colorer à l'aide du réactif iodo-ioduré.

Le chondriome n'a pas été conservé par les liquides de BOUIN et de NAWASCHIN; le liquide de REGAUD nous a permis de vérifier qu'il était représenté par des mitochondries granuleuses et des bâtonnets minces, allongés, quelquefois ondulés.

DORYCNIUM SUFFRUTICOSUM

Dans l'étuve électrique réglée à 22-23°, les graines de *Dorycnium suffruticosum* germent très facilement; placées dans une boîte de PÉTRI, sur du coton imbibé d'eau naturelle, elles gonflent assez rapidement; leur tégument craque et la radicule apparaît au bout de quarante-huit heures environ; elle atteint 1 mm. de long après trois jours de germination.

Dans l'étude de la formation de ces graines, nous avons vu qu'en fin de maturation, les cellules de l'épiderme cotylédonaire contenaient de nombreux grains d'aleurone, sphériques, de tailles diverses; l'aleurone de chaque cellule du parenchyme est constitué de deux à huit énormes grains de forme irrégulière occupant presque tout l'intérieur cellulaire.

Observé très rapidement dans un milieu aqueux, cet aleurone possède un aspect physique ponctué, non conservé par la coloration vitale.

Le plastidome est représenté dans l'épiderme cotylédonaire par quelques petits éléments sphériques; dans le parenchyme, ce sont des plastes réduits à une mince pellicule plastidiale qui entoure de gros grains d'amidon, ovoïdes ou sphériques, à hile rectiligne.

Ils sont accompagnés de quelques petits plastes incolores, de forme sphérique ou fuselée; enfin, serrés entre les grains d'aleurone ou contre la paroi cellulaire, de petits globules réfringents représentent les gouttelettes d'huile.

Notre étude de la germination a été faite pendant dix jours. Les observations et colorations vitales effectuées ont été suivies d'une étude de coupes colorées à l'hématoxyline ferrique après fixation.

Etude vitale et postvitale

Une germination pouvant, dans les conditions où nous l'avons effectuée, être considérée comme régulière, nous nous proposons d'en décrire les étapes successives après une heure, douze, vingt-quatre, trente-six heures, deux, trois, cinq et six jours. A chaque stade, les éléments cellulaires ne seront remarqués que lorsque les changements importants seront susceptibles de les intéresser,

Stade I. — Après une heure de germination, on constate peu de changement dans l'état général du contenu cellulaire, si ce n'est la disparition de l'aspect ponctué des grains d'aleurone. Ces derniers, observés vitalement, se présentent sous un aspect homogène, quelquefois alvéolaire, mais jamais conservé après coloration vitale (fig. a, pl. IV).

Tous ces grains sont colorables vitalement par le rouge neutre, prenant une teinte rose violacée dans les cellules épidermiques cotylédonaire, et rouge dans les cellules profondes, indice d'une différente acidité cellulaire.

Le plastidome n'a pas varié, si ce n'est l'aspect gonflé des gros amyloplastides des cellules profondes, que le réactif iodo-ioduré colore nettement en noir bleuté.

Stade II. — Après douze heures de germination, tous les grains d'aleurone sont très gonflés et très facilement colorables vitalement; leur aspect est homogène, sans inclusion surcolorée. Les plastides demeurant inchangés, nous n'observons pas encore d'amylolyse ni d'amylogénèse.

L'huile reste sans changement.

Stade III. — Après vingt-quatre heures de germination, les gouttelettes huileuses brunissent sous l'action de l'acide osmique; avec le rouge Soudan, elles se colorent en rouge orangé et ont tendance à s'agglomérer dans la cellule, en un ou deux globules plus volumineux; à première vue, cela pourrait faire croire à une lipogénèse, il n'en est rien; l'analyse chimique nous montrera qu'au contraire, une légère lipolyse est déjà amorcée.

Stade IV. — Trente-six heures de germination. Ce stade marque l'imbibition maximum de la graine; dès ce moment, la graine n'absorbe plus d'eau; les phénomènes d'hydrolyse font alors leur apparition.

Les grains d'aleurone, très gonflés, se colorent vitalement en rouge dans les cellules parenchymateuses, mais leur teinte plus pâle que précédemment est due à un début d'hydrolyse des protides aleuriques, à une diminution de leur concentration.

Les plastides amylofères de ces mêmes cellules se sont activement transformés; leur volume a considérablement diminué. Le réactif iodo-ioduré met en évidence de petites inclusions colorées soit en noir bleuté, soit en brun acajou; cette dernière

teinte doit être caractéristique de la présence d'érythro-dex-trine dans les anciens plastes amyli-fères (fig. b, pl. IV).

Nous avons noté la présence de petits plastes sphériques que l'on ne peut confondre avec les éléments du chondriome.

Stade V. — Après quarante-huit heures de germination, l'enveloppe de la graine a craqué, mettant à nu la petite radicule. En observation vitale, l'aleurone ne semble pas avoir subi de gros changements, il se trouve toujours sous forme de grosses vésicules homogènes; il nous faut cependant signaler la présence, peu fréquente, de globules intra-aleuriques. Si nous effectuons une coloration vitale à l'aide du rouge neutre, tous les grains d'aleurone se colorent en rose pâle, montrant à leur intérieur des précipités rouge vif, sphériques et animés de mouvements browniens quand ils se situent au sein de la masse aleurique, ou sous la forme de calottes accolées à la paroi aleurique (fig. c, pl. IV).

Les précipités, qu'ils soient naturels ou provoqués par le rouge neutre, représentent les restes non hydrolysés de la matière aleurique; celle-ci a floculé par déséquilibre osmotique naturel ou provoqué par un agent extérieur tel que le colorant vital.

Il arrive très souvent que ces précipités aleuriques rouge vif soient accompagnés de la décoloration du reste du grain d'aleurone, et qu'en franchissant la paroi aleurique ils émigrent dans le protoplasme. Ce phénomène risque d'induire en erreur un observateur qui n'a pas fait une étude complète de l'évolution de l'aleurone, et qui attribuerait une origine protoplasmique à ces précipités aleuriques.

L'amidon a presque totalement disparu. Les anciens plastes amyli-fères sont très réduits; leur inclusion prend une coloration peu nette avec le réactif iodo-ioduré. Ils sont accompagnés de nombreux petits éléments sphériques, certains de réfringence verte, représentant des chloroplastes en formation.

Stade VI. — Après soixante-douze heures de germination, les précipités aleuriques, naturels ou provoqués, sont en voie de régression, ils sont moins nombreux et moins volumineux, les nombreux essais pratiqués à ce stade à l'aide du rouge neutre nous permettent d'affirmer qu'une solution au 1/5.000^e et un maximum de coloration de deux minutes permettent d'obtenir de très belles colorations vitales,

Les anciens amyloplastés ont disparu; nous avons souvent aperçu dans le protoplasme des débris d'enveloppe plastidiale représentant les restes de ces organites définitivement inactifs.

Les petits chloroplastes qui se sont multipliés élaborent des grains d'amidon simples ou composés (fig. d, pl. IV), certains d'entre eux se colorent en brun acajou par le réactif iodo-ioduré. Cette nouvelle formation marque le début d'une photosynthèse due aux cotylédons commençant à verdier et jouant le rôle de feuilles assimilatrices.

L'huile se trouve toujours sous la forme de petites gouttelettes facilement repérables grâce à leur réfringence.

Stade VII. — Après cinq jours de germination, la photosynthèse est en pleine activité; les grains d'amidon grossissent, les petits chloroplastes se multiplient et les vacuoles aleuriques fusionnent; chaque cellule est occupée par une grande vacuole qui se colore uniformément en rose pâle par le rouge neutre (1).

Stade VIII. — Après six jours de germination, les grandes vacuoles des cellules parenchymateuses cotylédonaires diminuent de volume et prennent des formes irrégulières, allongées, étirées en tous sens. Seule une coloration vitale permet leur bonne observation (fig. e, pl. IV). Les grains d'amidon sont très gros, certains atteignant la taille du noyau (fig. e, e', pl. IV); leur enveloppe plastidiale, assez épaisse, est verte et très visible.

Les cellules épidermiques montrent un vacuome analogue accompagné de quelques petits plastés, certains d'entre eux élaborant de petits grains d'amidon (fig. f, f', pl. IV).

Les cellules stomatiques nettement différenciées contiennent de nombreux petits chloroplastes et de gros chloroplastes amyli-fères à inclusions multiples (fig. g, pl. IV). Quand la germination est plus avancée, ces plastés prennent une disposition particulière : les gros chloro-amyloplastés en arc de cercle contre les faces externes des cellules, les petits chloro-

(1) En examinant une de ces colorations, nous avons pu fortuitement faire une intéressante observation : nous avons assisté, au microscope, à la disparition progressive de deux petits précipités rouge vif qui se sont lentement solubilisés et qui ont fait place à une vacuole colorée uniformément en rose.

plastés, quelquefois élaborateurs d'amidon, en ligne, le long des faces internes entourant l'ostiole (fig. h, pl. IV).

Dans les stades très avancés, le vacuome des cellules profondes est très réduit, difficile à observer du fait que les cellules sont bourrées d'amidon à fine enveloppe plastidiale.

Les lipides sont représentés par de très petites granulations réfringentes, très mobiles, colorables en rouge vif par le rouge Soudan, et très souvent abondantes autour du noyau.

Etude après fixation

Nous avons surtout utilisé comme fixateurs les liquides de REGAUD et de BOUIN. Ceux-ci donnent une image assez exacte de l'évolution du vacuome pendant la germination; ils conservent dans la graine mûre l'aspect ponctué des grains d'aleurone, si l'on pousse assez loin la régression dans l'alun de fer à 2 p. 100 (fig. f, pl. V).

Si la régression est effectuée dans le but d'une complète étude des éléments cellulaires, l'aleurone se montre sous forme de grains très chromophiles (fig. e, pl. V); ces derniers, après trente-six heures de germination, se colorent toujours uniformément, mais la teinte noire est moins accentuée (fig. g, pl. V); après trois jours de germination, cette homogénéité fait place à une hétérogénéité : la méthode de REGAUD met en évidence des précipités globuleux très chromophiles dans les vacuoles aleuriques incolores; plus tard, ces précipités disparaissent, les cellules sont alors occupées par de grandes vacuoles entièrement incolores (fig. h, pl. V).

Le plastidome de la graine mûre est représenté par de gros grains d'amidon, abondants dans les cellules parenchymateuses, entourés d'une manière continue par une mince pellicule chromophile, souvent épaissie sur un côté. A côté d'eux, nous avons aperçu quelques très petits plastés, mais leur observation est rendue difficile du fait de la forte densité, à ce stade, du contenu cellulaire (fig. e, pl. V).

Pendant la germination, les plastés amylofères disparaissent peu à peu; le fixateur de BOUIN a bien conservé, après quarante-huit heures, les débris des enveloppes plastidiales des grains d'amidon hydrolysés, ainsi que les petits plastés qui, plus tard, verdiront et assureront la photo-synthèse (fig. g,

pl. V) ; l'amidon s'accumulera en effet dans ces plastes, sous forme de gros grains simples et composés (fig. h, h', pl. V).

Le chondriome est, pendant la phase de germination, formé de mitochondries granuleuses et de bâtonnets courts, rectilignes, comme nous les avons observés lors de la formation de la graine (fig. h', pl. V).

Cette étude du plastidome nous a montré que le verdissement et l'amylogénèse, pendant la germination du *Dorycnium suffruticosum*, sont dus à de très petits plastes, difficiles à retrouver dans la graine mûre à cause de la forte densité du contenu cellulaire, mais facilement observables après vingt-quatre heures de germination ; ce verdissement et cette amylogénèse ne doivent pas être attribués aux débris d'enveloppes plastidiales des anciens grains d'amidon de réserve, dont l'activité a entièrement disparu.

Enfin, il ne semble pas que l'amidon de germination soit dû à une hydrolyse des autres substances de réserve tels qu'aleurone, huile ; cette formation est uniquement fonction de l'assimilation chlorophyllienne, très active dans les cotylédons d'une plantule en voie de germination.

SOJA *HISPIDA*

Les graines de *Soja hispida* germent très facilement, il suffit de les placer sur du papier filtre ou du coton mouillés ; la germination est très régulière ; rapidement, les téguments éclatent, laissant apparaître la radicule ; l'axe hypocotylé s'allonge, en soulevant les cotylédons devenus verts.

Etude de la graine mûre

Les constituants de réserve de la graine de Soja sont, par ordre d'importance : l'aleurone, l'huile et l'amidon.

ALEURONE

Il se présente sous forme de grains sphériques ou ovoïdes, plus petits et plus nombreux dans les cellules épidermiques et dans les cellules bordant les vaisseaux cotylédonaire, que dans les cellules parenchymateuses.

Dans les cellules bordant les vaisseaux, nous avons pu en compter plusieurs dizaines.

Tous ces grains sont homogènes et se colorent vitalement en rouge vif par le rouge neutre.

Nous avons appliqué microchimiquement à ces grains quelques réactions caractéristiques des protides : ainsi, les réactions du biuret et xanthoprotéique sont positives; l'éosine les colore en rose, le réactif iodo-ioduré en jaune.

AMIDON (fig. h, pl. VI)

La question de l'amidon dans la graine de Soja a été et est encore discutée; tous les essais que nous avons effectués à l'aide du réactif iodo-ioduré, nous ont permis de déceler des granulations bleu-violet révélatrices de la présence d'amidon.

TANRET nota l'absence d'amidon dans les coupes de *Soja hispida* observées au microscope; néanmoins, il put le déceler chimiquement en faisant bouillir de la poudre de graine avec de l'eau acétique; en filtrant puis en traitant le filtrat par une solution d'iode, il obtint la coloration bleue caractéristique.

De nombreux auteurs, tels que BLONDEL, MOUNIER, ont eu une réaction négative avec le réactif iodo-ioduré et l'ont expliqué par l'absence d'amidon dans la graine mûre.

BEILLE, ayant traité par l'iode un certain nombre de coupes, observa des granulations colorées en bleu-violet, disséminées entre les grains d'aleurone; il précisa même que ces granulations sont plus abondantes au contact des parois cellulaires; selon lui, cette pigmentation correspondrait à la présence de grains d'amidon extrêmement petits.

Après de nombreuses observations, nous pouvons affirmer que la présence d'amidon dans la graine mûre de *Soja hispida* n'est pas douteuse, mais à ce stade, tout au moins, ce glucide est en proportion minime.

L'étude de l'amidon pendant la maturation et la germination nous a largement confirmé ce résultat.

Répartition de l'amidon dans la graine mûre. — Si nous traitons une coupe de cotylédon par le réactif iodo-ioduré, et si nous l'observons à un faible grossissement, la coupe se colore en bleu-noir, d'une manière irrégulière; en partant de l'épiderme interne, nous observons :

- a) Une zone foncée, large;
- b) Une zone plus claire, large;

c) Une zone, limitée par l'épiderme externe, foncée et mince.

Cette différence de teinte n'est pas due à une répartition inégale de l'amidon; cette inégalité apparente provient des dimensions différentes des cellules dans les diverses parties du cotylédon. Les parenchymes en bordure des épidermes sont formés de cellules allongées et très serrées, tandis que le parenchyme profond est composé de cellules larges et polygonales.

Toutes les cellules du parenchyme cotylédonaire contiennent huit à douze petits grains d'amidon composés.

HUILE (fig. h, pl. VI)

En observation vitale, l'huile apparaît dans toutes les cellules cotylédonaires, sous la forme de très nombreuses gouttelettes réfringentes, réparties uniformément dans le protoplasme; nous avons coloré cette huile à l'aide du rouge Soudan, de la teinture d'Orcanette et de l'acide osmique; son aspect morphologique est alors changé; ainsi, le rouge Soudan fait apparaître l'huile sous la forme de gros globules orangés qui se localisent soit sur le bord (dans ce cas ils sont déformés), soit dans un angle de la cellule.

Pour montrer l'action du colorant sur la forme de l'huile, nous avons effectué la double coloration suivante :

1° Mélange à parties égales de rouge Soudan et de solution de LUGOL : trois minutes;

2° Rouge Soudan : cinq minutes;

3° Lavage rapide à l'alcool à 60°.

Les grains d'aleurone se colorent en jaune clair, l'huile en orangé, cette dernière se présentant sous l'aspect d'une vingtaine de petites gouttelettes. Ainsi, l'addition du réactif de LUGOL a perturbé l'état morphologique des lipides.

GRAINE GERMÉE

Etude vitale et postvitale

ALEURONE

Nous avons suivi son évolution pendant la germination à l'aide du rouge neutre; les prélèvements ont été faits après

douze heures et un, deux, trois, quatre, cinq, six, sept, huit jours de germination.

Le colorant employé est en solution aqueuse au 1/5.000°.

a) Après douze heures de germination. — La pénétration du colorant vital est relativement rapide; trois minutes suffisent pour colorer en rose les grains d'aleurone des cellules parenchymateuses; ces grains sont gonflés par suite du début d'hydratation de la graine.

D'une manière générale, comme avant maturité, ce sont les cellules épidermiques et en bordure des vaisseaux qui prennent le mieux le colorant vital.

b) Après vingt-quatre heures de germination. — Mêmes observations; le gonflement des grains d'aleurone paraît plus accentué (fig. a, pl. VII).

c) Après quarante-huit heures de germination. — Dans certaines cellules, nous avons pu observer, entre deux grains d'aleurone gonflés, un petit canal les réunissant, indice de leur future fusion (fig. b, pl. VII).

d) Après trois jours de germination. — Les cellules renferment des grains d'aleurone de grosseur très inégale; les plus gros, par leur forme, proviennent de la fusion de deux, trois ou quatre grains de la graine mûre. A ce stade, le terme de « vacuole aleurique » doit être appliqué à ces gros grains (fig. c, pl. VII).

e) Après quatre jours de germination. — Les cellules renferment quatre à six vacuoles aleuriques d'une forme géométrique bien déterminée, colorées en rose pâle par le rouge neutre. Nous observons dans certaines vacuoles des corpuscules sphériques d'une coloration rouge vif et de dimensions diverses; ce sont, soit de gros globules peu nombreux, soit de petits grains très nombreux situés à la périphérie ou au centre de la vacuole.

f) Après cinq jours de germination. — Les cellules sont occupées par trois ou quatre grandes vacuoles de formes diverses, de couleur rose pâle, contenant de petits corpuscules sphériques rouge vif; il arrive très souvent d'observer un de ces corpuscules dans le protoplasme, à l'extérieur du système vacuolaire, cette migration est le résultat d'un déséquilibre osmotique dans le vacuome, dû à la présence du colorant vital.

g) Après six jours de germination. — Les cellules sont entièrement occupées par une ou deux grandes vacuoles roses contenant quelques petits globules rouge vif (fig. d, pl. VII).

h) Après sept et huit jours de germination. — Une grande vacuole est observée dans chaque cellule; de coloration rose pâle, elle ne contient plus de globules rouge vif.

Les globules sphériques observés précédemment représentent la matière protéique qui constituait les grains d'aleurone de la graine mûre, et qui a floculé sous l'action du colorant vital.

Ces globules disparaissent quand toute la matière protéique de réserve a été employée au développement de la jeune plantule.

La méthode de colorations vitales nous a ainsi permis de suivre l'évolution des grains d'aleurone de la graine de *Soja hispida*. Quand la graine germe, elle absorbe beaucoup d'eau, et la plantule se développe en utilisant les matières de réserve accumulées dans la graine. Autrement dit, les phénomènes de la germination sont inverses de ceux de la maturation. L'évolution des grains d'aleurone dans la graine en voie de germination sera inverse de l'évolution observée au cours de la maturation : les grains d'aleurone gonflent, leur fluidité augmente; ils prennent une forme sphérique, ou bien se déforment et, peu à peu, se fusionnent entre eux. A une certaine concentration, la matière protéique qui constitue les grains, flocule sous l'action du colorant vital; quand elle est toute utilisée, nous observons de grandes cellules contenant une seule vacuole homogène identique à celles observées dans les cellules d'une très jeune graine; le grain d'aleurone est revenu peu à peu à l'état de vacuole liquide, comme il l'était à l'origine.

Les vacuoles de la plantule dérivent donc directement des grains d'aleurone de la graine mûre, qui proviennent eux-mêmes des vacuoles de la jeune graine.

PLASTIDOME

Nous avons étudié simultanément et aux mêmes stades, l'évolution du plastidome. L'amidon a été observé soit vitalement, soit à l'aide du réactif iodo-ioduré.

a) Après douze heures de germination. — Nous n'observons pas de changement dans l'aspect général du plastidome, les cellules contiennent le même nombre de plastes amyliifères, irrégulièrement répartis entre les grains d'aleurone dans les travées protoplasmiques.

b) Après un et deux jours de germination. — Les plastes amyliifères restent toujours inchangés; cependant, nous observons un léger gonflement du *stroma* entourant le grain d'amidon (fig. e, pl. VII).

c) Après trois et quatre jours de germination. — Le nombre des plastes amyliifères de la graine mûre est toujours le même, mais les plastes contiennent alors huit à treize petites inclusions au lieu de trois à six; ces inclusions sont très petites, certaines se colorent en brun acajou par le réactif iodo-ioduré; le volume total des inclusions dans chaque plaste semble être le même qu'au stade précédent, la coloration à l'aide du réactif iodo-ioduré caractérise le stade érythro-dextrine. L'hydrolyse de l'amidon de réserve s'accompagnerait donc d'une fragmentation des grains d'amidon; corrélativement, ces derniers se dextriniseraient, et le *stroma* plastidial augmenterait de volume.

A côté de ces grains d'amidon en hydrolyse, des petits grains apparaissent dans le protoplasme des cellules parenchymateuses, ils sont situés dans de petits plastes demeurés inactifs dans la graine mûre, où leur observation était difficile à faire; par leur petitesse, ils se distinguent aisément des grains d'amidon en hydrolyse (fig. f, pl. VII).

d) Après cinq jours de germination. — L'hydrolyse continue au milieu des plastes amyliifères, chaque grain devient de plus en plus petit, certains se colorent en brun acajou, le contour du plaste apparaît nettement ainsi que son *substratum*.

Les cotylédons, à ce stade, sont légèrement verts; les petits grains d'amidon en formation se caractérisent sur un *stroma* plastidial vert; ce sont donc ces plastes qui sont responsables du verdissement cotylédonnaire (fig. g, pl. VII).

e) Après six et huit jours de germination. — Le verdissement des cotylédons s'accroît; les cellules du parenchyme palissadique montrent de gros chloroplastes à côté des petits grains d'amidon (fig. h, pl. VII).

f) A partir du neuvième jour, c'est-à-dire à partir du moment où les cotylédons, élevés par l'axe hypocotylé, commencent à s'étaler, de nombreux grains d'amidon apparaissent dans toutes les cellules parenchymateuses, ils sont, soit simples, soit composés, leur enveloppe plastidiale est verte; cet état caractérise une photosynthèse intense due aux cotylédons verts jouant le rôle de feuilles assimilatrices (fig. i, pl. VII).

Ainsi, les graines de *Soja hispida* en germination sont le siège d'une amylolyse lente des grains d'amidon de réserve, durant laquelle le stade érythrodextrine peut quelquefois être saisi; elle est accompagnée tardivement d'une amylogenèse dont l'intensité ira s'élevant à mesure que la photosynthèse jouera un rôle de plus en plus actif.

LIPIDES

L'évolution des lipides pendant la germination de la graine de *Soja hispida* a été étudiée, d'une part, vitalement, d'autre part, avec le rouge Soudan et l'acide osmique.

a) Après douze heures de germination. — L'observation sans colorant est assez difficile; l'état des lipides demeure inchangé; le gonflement des grains d'aleurone hydratés a tendance à les diviser en multiples gouttelettes que le rouge Soudan réunit en deux ou trois gros globules orangés.

b) Après deux jours de germination. — L'observation des lipides est plus facile à faire, leur quantité semble ne pas encore avoir changé.

c) Après trois et quatre jours de germination. — La lipolyse débute, les gouttelettes lipidiques sont plus petites et beaucoup moins nombreuses.

Dans les stades ultérieurs, les gouttelettes lipidiques disparaissent, mais nous pouvons cependant observer dans le protoplasme cellulaire de minuscules gouttelettes, très mobiles, qui se colorent en rouge vif par le rouge Soudan. Ces fines gouttelettes augmentent très rapidement de nombre. Cette rapide augmentation est en relation avec l'activité de la photosynthèse; en effet, ce sont les cellules du parenchyme palissadique des cotylédons qui en contiennent le plus.

L'évolution des lipides pendant la germination des graines

de *Soja hispida* est donc classique; ils disparaissent lentement par suite de leur utilisation; quand les cotylédons deviennent très verts et sont le siège d'une intense assimilation chlorophyllienne, une légère lipogenèse est constatée : elle se manifeste par l'apparition de très nombreuses et petites gouttelettes d'huile, surtout abondantes dans le parenchyme palissadique.

Etude après fixation

Nous avons fixé des graines mûres et germées de *Soja hispida* avec les liquides de BOUIN, NAWASCHIN et REGAUD; les coupes ont été ensuite colorées à l'hématoxyline ferrique, ou bien ont subi la double coloration hématéine-éosine dans le cas d'une graine mûre.

La pratique de cette étude, dans le cas de la graine mûre, est très délicate : en effet, les graines mûres de Soja sont très dures, très coriaces; le fixateur pénètre donc très difficilement; nous avons donc pris la précaution d'enlever les téguments et de couper les cotylédons en très petits fragments, afin que la plus large surface possible de tissus soit en contact avec le fixateur.

1° Coloration hématoxyline ferrique après fixation au liquide de REGAUD. — La régression, dans l'alun de fer à 3 p. 100, est longue et difficile à suivre. En effet, elle n'est pas homogène : les cellules qui avoisinent les vaisseaux ainsi que les cellules épidermiques et sous-épidermiques régressent très rapidement, les cellules parenchymateuses très lentement.

Nous observons dans les cellules un très grand nombre de grains d'aleurone, ronds ou ovoïdes, colorés en gris. Entre eux, dans un protoplasme non chromophile, les grains d'amidon sont nettement visibles; le *stroma* plastidial est très coloré et les entoure d'une manière continue.

En poussant un peu plus la régression dans l'alun de fer à 3 p. 100, les grains d'aleurone se décolorent progressivement mais avec hétérogénéité, certains points paraissant plus chromophiles que d'autres; on peut ainsi déterminer chez l'aleurone, après fixation, une structure ponctuée.

2° Coloration hématéine-éosine après fixation au liquide de REGAUD. — Les grains d'aleurone apparaissent colorés en

rose, séparés par de fines travées protoplasmiques incolores; la coloration rose des grains n'est pas homogène, quelques petits espaces ronds ou ovoïdes y sont incolores.

Nous pouvons, dans un tableau, résumer les résultats obtenus par ces deux méthodes :

Liquide de REGAUD.	Coloration hématoxyline-ferrique : grains d'aleurone colorés en gris avec de fines granulations colorées électivement en noir.
	Coloration hématéine-éosine : grains d'aleurone colorés en rose, laisse incolores dans leur intérieur des corpuscules généralement ronds ou ovoïdes.

Dans les deux cas, les structures de l'aleurone observées sont différentes : nous pouvons donc conclure qu'elles sont dues à l'action des fixateurs et colorants.

L'aspect et la structure des grains d'aleurone de la graine de *Soja hispida* doivent être considérés comme homogènes.

Pendant la germination (fig. n, pl. VII), les grains d'aleurone se transforment en vacuoles par fusion progressive, et l'intensité de leur coloration baisse au fur et à mesure de leur dilution.

Le plastidome a été bien fixé par les liquides de REGAUD, de BOUIN et de NAWASCHIN.

Le chondriome, conservé seulement après une fixation au liquide de REGAUD, est, comme avant maturité, composé de petits grains et de filaments fins et flexueux (fig. n, pl. VII).

CERCIS SILIQUASTRUM

Les graines de *Cercis siliquastrum* sont petites; dans leur plus grande dimension, elles atteignent 4 millimètres; elles possèdent des téguments très durs, un albumen avec cellules à parois très épaisses, qui entoure l'embryon formé de deux cotylédons jaunes assez développés. Très dures à couper, il faudra donc prévoir une germination difficile; en effet, les Etablissements VILMORIN-ANDRIEUX conseillent de semer les graines en avril, après trempage de quarante-huit heures, puis de couvrir la graine seulement de 1 centimètre.

Pour obtenir une germination rapide au laboratoire, il faut enlever les téguments sur une grande surface, plonger les graines dans de l'eau à 30° pendant quarante-huit heures environ; on les place ensuite sur du coton imbibé d'eau, dans une boîte de PÉTRI; le tout est placé dans l'étuve électrique réglée à 22-23°. Nous obtenons une germination régulière mais très lente.

Dans la graine mûre, l'aleurone se présente sous forme de grains de grosseurs différentes selon la cellule étudiée :

1° Dans l'albumen, les cellules profondes aux parois très épaisses contiennent cinq à sept grains d'aleurone, sphériques, de 3 à 6 μ de diamètre. Dans les cellules superficielles, le nombre de grains augmente, mais leur grosseur diminue, certaines cellules peuvent en posséder jusqu'à trente, qui ont alors un diamètre variable de 0,5 μ à 1,5 μ .

2° Dans les cellules épidermiques des cotylédons, nous pouvons compter huit à quinze grains d'aleurone, sphériques ou ovales, de 1,5 μ à 3 μ de diamètre; un, beaucoup plus gros dans chaque cellule, est occupé presque entièrement par un ou quelquefois deux cristaux d'oxalate de calcium.

3° Dans les cellules parenchymateuses des cotylédons, l'aleurone se présente sous la forme de cinq à sept gros grains sphériques de 2,5 μ à 5 μ de diamètre; il faut excepter les cellules avoisinant les faisceaux conducteurs; allongées et très étroites, seul le rouge neutre permet d'y mettre en évidence vingt-cinq à quarante petits grains de formes diverses, sphériques, ovales, allongés, dont les dimensions maxima atteignent 0,3 μ (1 μ pour les grains étirés).

Toutes ces cellules parenchymateuses ne peuvent être colorées vitalement avec les techniques habituelles, un contact très long d'une portion de graine avec le colorant est nécessaire pour l'obtenir : pour colorer le parenchyme interne, il faut plonger les coupes dans une solution de rouge neutre au 1/5.000° pendant cinq minutes au minimum.

Les cellules de l'albumen sont très imperméables au colorant vital, à cause de leurs épaisses membranes; le rouge neutre colore assez rapidement ces dernières et ne pénètre à l'intérieur qu'après quinze minutes de bain.

Tous les grains d'aleurone observés sont homogènes, ils ne présentent pas d'inclusion; l'aleurone à oxalate des cellules

épidermiques cotylédonaire ne doit pas faire une exception, l'oxalate ne constituant pas ici une réserve minérale.

Nous noterons la coloration orangée de l'aleurone des cellules profondes, et rouge de celui des cellules épidermiques avec le rouge neutre; ces deux teintes indiquant une acidité différente, le colorant jouant le rôle d'indicateur, comme l'a montré P. DANGEARD.

L'amidon fait totalement défaut dans la graine mûre qui contient quelques plastes incolores assez petits.

L'huile se montre dans les cellules profondes sous forme de deux à trois globules accompagnés de petites granulations très réfringentes, brunissant par l'acide osmique et se colorant par le rouge Soudan.

Etude vitale et postvitale

VACUOME

Après quelques heures de germination effectuée comme nous l'avons indiqué précédemment, le rouge neutre permet de bonnes colorations vitales; trois à quatre minutes de contact avec une solution au 1/5.000^e suffisent; pour les cellules épidermiques des cotylédons, la technique habituelle est appliquée : immersion dans le colorant d'une portion de cotylédon, puis coupes tangentielles à l'épiderme. A ce stade, nous n'avons pas observé de changement important dans l'aspect général de l'aleurone, qui paraît légèrement gonflé; les grains d'aleurone à oxalate prennent une teinte rose pâle, très différente de la coloration rouge vif des autres grains d'aleurone de l'épiderme. Les cristaux sont restés identiques à eux-mêmes.

Quand la graine a germé pendant vingt-quatre heures, ses tissus ont légèrement gonflé; ils sont plus faciles à couper; la fusion des grains d'aleurone commence. A cet état, ils sont semi-fluides : si nous écrasons légèrement la lamelle, ils ont tendance à se réunir pour former dans la cellule deux ou trois gros globules.

L'emploi du rouge neutre pour colorer vitale ment ces cellules, donne aux grains d'aleurone une teinte uniforme, mais cependant plus faible.

L'apparition de précipités vacuolaires sous l'action du colorant se produit après une germination de deux jours : la fusion vacuolaire a progressé, elle s'accompagne d'une précipitation de globules rouge vif, animés de mouvements browniens; ces globules représentent les restes de matière aleurique non encore hydrolysée, floculée sous l'action du rouge neutre; cette précipitation s'accompagne très souvent de la décoloration de la vacuole; elle concerne uniquement les cellules du parenchyme cotylédonaire; les cellules de l'albumen et de l'épiderme cotylédonaire évoluent sans précipitation.

Quand la germination est très avancée, ces précipités ne se forment plus. La grande vacuole, alors unique dans chaque cellule, se colore en rose pâle par le rouge neutre.

L'évolution des grains d'aleurone dans les graines de *Cercis siliquastrum* s'effectue donc normalement pendant leur germination, par hydratation progressive et par diminution de concentration. Ils se transforment en vacuoles de plus en plus volumineuses; le contenu protéique flocule à un moment déterminé sous l'effet du colorant vital, puis disparaît quand il est entièrement hydrolysé.

Le terme de passage aleurone-vacuole est ainsi vérifié dans ces graines.

Pendant toute la période de germination étudiée, nous avons remarqué la présence constante de cristaux d'oxalate de calcium dans les cellules épidermiques cotylédonaires (fig. a, pl. IX); leur présence prouve qu'ils sont plutôt des déchets que la plante a accumulés dans la graine en formation, que des substances de réserve qui auraient été utilisées pendant la germination.

PLASTIDOME

La graine mûre de *Cercis siliquastrum* ne contient pas d'amidon et est dépourvue de chlorophylle. Le plastidome y est formé de petits organites incolores représentant des leucoplastes (fig. i, pl. VIII).

Au début de la germination, une petite inclusion apparaît dans certains d'entre eux, la coloration qu'elle prend avec le réactif iodo-ioduré diffère selon le plaste dans une même cellule; certaines se colorent en bleu-noir; d'autres en brun-

acajou; d'autres semblent à peine se teinter; il y a donc un début d'amylogenèse et de dextrinogenèse, mais cette accumulation est très fugace, car après vingt-quatre heures de germination, les inclusions ont disparu. Par la suite, les plastes se multiplient activement; quelquefois, nous remarquons une accumulation passagère d'érythro-dextrine, mais jamais d'amidon.

Le verdissement des cotylédons est assez tardif; vers le huitième jour, les plastes verdissent, grossissent; de petits grains d'amidon apparaissent à leur intérieur; cet amidon de photosynthèse est quelquefois précédé par la formation d'érythro-dextrines; c'est surtout dans les cellules du parenchyme palissadique que nous l'observons.

CHONDRIOME

Il est difficile de le mettre en évidence vitalement dans les premiers stades de germination; seules des coupes fixées et colorées nous ont permis de les décrire.

Lors du verdissement des cotylédons, l'observation vitale des cellules du parenchyme palissadique met en évidence, à côté des plastes chlorophylliens et amyli-fères, de très petites granulations, quelquefois amassées près du noyau, accompagnées de petits filaments légèrement ondulés (fig. b, pl. IX). Nettement individualisé, ce chondriome ne peut être confondu avec le plastidome dont les éléments sont différents par leur volume et leurs fonctions élaboratrices diverses.

LIPIDES

L'huile, dans la graine mûre, se présente sous l'aspect de gouttelettes légèrement plus grosses que les plastes et assez abondantes dans les cellules profondes; pendant la germination, elle disparaît peu à peu et régulièrement. L'acide osmique, qui est réduit à son contact, permet de bonnes observations; le rouge Soudan, qui colore les gouttelettes lipidiques en rouge orangé, a tendance à les faire fusionner. Vers le huitième jour, l'huile n'est plus représentée que par de très fines granulations, animées de mouvements désordonnés et qui se colorent en rouge vif par le rouge Soudan.

Quand les cotylédons sont devenus très verts, ces granula-

tions se multiplient et quelquefois se réunissent pour former de petites gouttelettes très réfringentes; cette légère augmentation est un des résultats de la photosynthèse en pleine activité dans les cotylédons.

Etude après fixation

Quelques stades de germination ont été fixés à l'aide des liquides de BOUIN, BOUIN-HOLLANDE, HELLY, NAWASCHIN et REGAUD; ce dernier nous a donné les meilleurs résultats quant au chondriome, plastidome et vacuome.

Le liquide de HELLY s'est montré un bon fixateur du plastidome et du chondriome.

Les liquides de BOUIN, de BOUIN-HOLLANDE et de NAWASCHIN ont bien fixé le plastidome, mais n'ont pas conservé le chondriome.

Nous avons suivi l'évolution des grains d'aleurone; leur coloration noire très intense dans la graine mûre diminue au fur et à mesure qu'ils s'hydratent et que leur concentration en matières protéiques diminue. Après six heures de germination, les grains d'aleurone possèdent quelques petites inclusions claires qui doivent correspondre à un artefact dû à la fixation.

Quand la germination est très avancée, les grains d'aleurone hydratés et fusionnés forment de grandes vacuoles non chromophiles occupées par des précipités globuleux chromophiles représentant la matière protéique de réserve non encore hydrolysée (fig. j, pl. IX), ces précipités disparaissent par la suite; toutes les cellules sont alors occupées par de grandes vacuoles incolores.

L'emplacement, dans les vacuoles des cellules épidermiques cotylédonaires, des cristaux d'oxalate de calcium solubilisés après passage dans l'alun ammoniacal, se révèle avec une grande netteté par sa non chromophilie (fig. j, pl. IX).

Les cellules bordant les vaisseaux dans les cotylédons suivent la même évolution, les petits grains d'aleurone s'hydratent et se fusionnent pour former dans chacune d'elles des vacuoles filamenteuses de moins en moins chromophiles (fig. k, l, m, pl. IX).

Pendant toute la germination, le plastidome et le chondriome présentent des caractères morphologiques très diffé-

rents; les plastes amylofères s'observent nettement dans un état avancé de germination, les mitochondries granuleuses ou en filaments ondulés n'évoluent point, elles restent toujours identiques à elles-mêmes.

ACACIA DEALBATA

Essais de germination

Les graines d'*Acacia dealbata* sont très réfractaires à la germination; les Etablissements VILMORIN-ANDRIEUX conseillent de faire tremper les graines dans de l'eau tiède pendant quarante-huit heures environ avant le semis, puis de semer en pots contenant de la terre de bruyère sableuse, sur couche tiède en serre ou sous châssis. On doit ensuite repiquer en godets qu'on place dans une serre ou sous châssis fermés pour assurer la reprise. La germination est donc une opération très délicate à pratiquer et qui ne réussit pas toujours.

Pour nos expériences personnelles nous avons utilisé deux procédés :

Le premier consiste à placer les graines pendant soixante-douze heures au moins dans de l'eau à 30-35° et à les mettre ensuite sur du coton imbibé d'eau dans une boîte de PÉTRI que l'on place dans une étuve électrique réglée à 22-23°.

Dans le deuxième, on augmente la faculté germinative en enlevant délicatement, à l'aide d'un scalpel, une petite portion de tégument ou, mieux, en piquant les graines à l'aide d'une aiguille fine, sans toutefois léser l'embryon, de manière à permettre à l'eau de pénétrer facilement; on place ensuite les graines sur du coton mouillé, comme dans le premier cas.

Nous avons surtout utilisé le deuxième procédé, car il nous a donné les meilleurs résultats.

La germination nous a permis d'étudier l'apparition, sur l'épiderme externe des cotylédons, d'une coloration rose violacée due à la formation d'un pigment authocyanique; cette coloration naturelle nous a facilité les observations sur l'évolution vacuolaire des cellules pigmentées, sans le concours des colorants vitaux.

Etude vitale et postvitale

VACUOME

Pendant les premières heures de germination, nous observons peu de changements dans la morphologie des grains d'aleurone; le rouge neutre les colore vitalement en rose vif dans les cellules épidermiques, en rose orangé dans les cellules parenchymateuses.

Stade vingt-quatre heures de germination. — Les grains ont doublé de volume, le tégument noir s'éclaircit et prend une teinte brun clair; les grains d'aleurone sont très gonflés, ils se colorent bien vitalement (fig. k, l, pl. X). Si nous traitons une coupe non colorée par le réactif iodo-ioduré, tous les grains d'aleurone se colorent en jaune brun et prennent en même temps un aspect finement granuleux.

Stade quarante-huit heures de germination. — Les grains sont gonflés au maximum; toutefois, le tégument n'a pas encore éclaté; si nous l'enlevons, nous apercevons la radicule qui commence à croître; elle mesure alors 3 mm. de longueur.

Les grains d'aleurone des cellules épidermiques commencent à se fusionner; ils prennent l'aspect de filaments ondulés. Dans les cellules profondes, aucun changement n'est décelé, si ce n'est leur augmentation de volume.

Le réactif iodo-ioduré fait précipiter le contenu de ces grains sous forme de granulations ou d'éléments allongés et bosselés, de couleur brun foncé.

Stade soixante-douze heures de germination. — Les téguments déchirés laissent apparaître la radicule, qui atteint 5 mm. de longueur, et les cotylédons d'une teinte vert pâle.

Les grains d'aleurone continuent à se fusionner dans les cellules épidermiques; ils sont alors remplacés par quatre ou cinq grandes vacuoles de contenu paraissant homogène aussi bien en observation qu'en coloration vitales (fig. a, pl. XI).

Les cellules mères des cellules stomatiques montrent toujours un vacuome formé de petits grains sphériques; l'évolution vacuolaire y est donc très lente, comme dans les cellules parenchymateuses (fig. b, pl. XI).

Stade quatrième, cinquième, sixième jours de germination. — La racine est déjà bien différenciée de l'axe hypocotylé

qui mesure 2 mm. environ; le collet qui les sépare est très large.

Nous assistons, dans les cellules épidermiques externes des cotylédons :

1° A la fin de la fusion vacuolaire : chaque cellule est occupée par une ou deux grandes vacuoles à contenu homogène, aussi bien en observation vitale qu'en coloration vitale (fig. c, pl. XI);

2° A l'apparition, dans toutes les vacuoles observées vitalemment, d'une substance rose violacée en dissolution; nous avions d'abord pensé que cette formation de pigment anthocyanique était une réaction de défense de la plantule, peut-être blessée à la suite de l'ablation d'une partie des téguments; il n'en est rien, puisque cette coloration apparaît aussi sur les cotylédons d'une graine mise à germer comme l'indique VILMORIN.

Le pigment anthocyanique a bien une origine naturelle.

Stade septième jour de germination. — La racicule dépasse 2 cm. de longueur; les cotylédons, très verts, s'écartent légèrement, laissant entrevoir un petit bourgeon feuillu, avec une première feuille composée pennée déjà bien développée.

Les cellules épidermiques externes cotylédonaires possèdent de grandes vacuoles colorées en rose violacé, plus intensément que précédemment; au contraire, les cellules épidermiques internes montrent des vacuoles incolores qui se colorent avec homogénéité en rose par le rouge neutre.

Les cellules parenchymateuses (fig. d, pl. XI) sont aussi occupées par de grandes vacuoles que le rouge neutre colore vitalemment en y précipitant la matière protéique sous forme de globules colorés en rouge vif. Il est intéressant de remarquer que la fusion vacuolaire chez ces cellules a été longue à se déclencher, mais qu'ensuite elle s'est faite très rapidement.

Le réactif iodo-ioduré précipite toujours le contenu des vacuoles dans l'épiderme ou le parenchyme, sous des formes variées.

Stade huitième, neuvième, dixième jours de germination. — L'axe hypocotylé continue à croître et atteint 7 cm.; les cotylédons très épuisés sont minces; rougeâtres du côté externe, ils sont verts du côté interne; l'axe épicotylé atteint 1 cm. et

porte, en dessous des bourgeons feuillus, une première feuille composée pennée déjà très chlorophyllienne.

La transformation des grains d'aleurone en vacuoles est terminée dans toutes les cellules; le système vacuolaire va, dès à présent, perdre de l'importance, au profit du plastidome qui se développe intensément.

Nous avons, à ce stade, observé deux faits qui méritent d'être signalés :

1° Un fait de morphologie externe : les cotylédons ont tendance à replier leurs bords du côté externe;

2° Le pigment anthocyannique, qui se trouve dissous dans les vacuoles de l'épiderme externe, a tendance à se concrétiser dans quelques vacuoles, en un gros globule de coloration violette très intense, tandis que le reste de la vacuole se décolore.

Ces globules formés naturellement sont à rapprocher des transformations décrites par POLITIS, sous le nom de cyanoplastes, et par LIPPMAN (1926) et WEBER (1934-1936), sous le nom d'anthocyanophores que l'on peut observer dans l'épiderme des fleurs d'*Iris germanica*, *Iris pallida*, dans les fleurs d'*Erythraea* et chez quelques Borraginées.

Nous n'avons pas observé de globules similaires dans les cellules épidermiques internes; ils n'existent que dans les cellules à pigments.

De plus, ces formations apparaissent très longtemps après l'apparition du pigment, au moment où la concentration de celui-ci est très grande; d'après nous, à une certaine concentration, le pigment flocculerait naturellement dans la vacuole, comme le font les matières protéiques pendant la maturation ou la germination.

Nous avons ainsi suivi l'évolution des grains d'aleurone dans les graines d'*Acacia dealbata* en germination, nous avons observé leur transformation progressive en vacuoles de plus en plus grandes, à l'aide ou non de colorants vitaux. Elle est très classique; les grains d'aleurone sont bien le point de départ des vacuoles dans les graines germées.

PLASTIDOME

Après quelques heures de germination, les amyloplastes de la graine mûre demeurent inchangés, ils sont accompagnés

d'éléments plus petits, incolores, qui devaient exister dans la graine, mais que l'état de déshydratation empêchait d'observer.

Vingt-quatre heures après, apparaissent dans ces petits plastes incolores, de minuscules grains d'amidon que, seul, le réactif iodo-ioduré permet de déceler; ils se distinguent aisément des gros plastes amylofères de la graine mûre (fig. k, pl. X). De même dans les cellules sous-épidermiques, nous voyons se former de petits grains d'amidon (fig. l, pl. X).

Quand la germination est plus avancée, de nouveaux plastes grossissent et accumulent très souvent plusieurs grains d'amidon (fig. m, m', pl. X).

En même temps, l'amidon de réserve commence à s'hydrolyser : le réactif iodo-ioduré nous montre quelquefois une auréole brun acajou entourant le grain d'amidon en hydrolyse. Peut-être avons-nous saisi une zone d'hydrolyse avec présence d'érythro-dextrine ?

Le côté interne du cotylédon verdit, tandis que le côté externe devient rose violacé par suite de la formation du pigment anthocyannique, dans les vacuoles des cellules épidermiques.

Les grains d'amidon qui s'accumulent dans les cellules profondes sont très souvent composés, leur enveloppe plastidiale est très verte; les anciens amyloplastides de réserve voient leur inclusion disparaître; nous ne pensons pas qu'ils soient de nouveau actifs pendant la germination; le verdissement est dû aux nouveaux amyloplastides dérivés des petits plastes difficilement observables dans la graine mûre.

L'amylogenèse débute dans cette graine en germination un peu avant son verdissement. Il est très possible que cet amidon soit le résultat d'une polymérisation glucidique sans rapport avec la photosynthèse, mais par la suite, l'augmentation progressive et continue de la matière amyloacée est le résultat de l'activité chlorophyllienne dans les cotylédons jouant le rôle de feuilles assimilatrices (fig. d, pl. XI).

Nous avons étudié la répartition de l'amidon dans les cotylédons au moment où la photosynthèse est en pleine activité, après six, neuf et treize jours de germination.

Les trois schémas suivants représentent des coupes de cotylédons faites à ces différentes époques; les différentes zones

sont hachurées d'une manière plus ou moins dense, selon la concentration en grains d'amidon.

Après *six jours* de germination (fig. 1), nous pouvons distinguer trois zones différentes par le nombre et la nature des plastes amylières :

1° La zone I, dite palissadique, faisant suite à l'épiderme interne dénué d'amidon. Elle est formée de cinq à sept couches de cellules allongées, serrées, contenant quinze à vingt

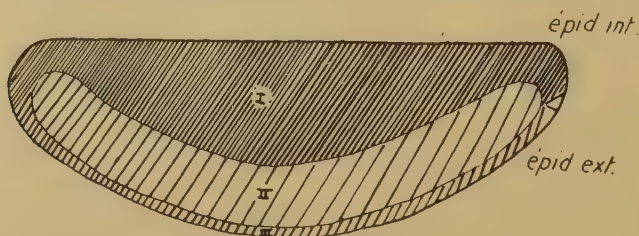


FIG. 1.

Répartition de l'amidon dans une coupe transversale de cotylédón après six jours de germination.

grains d'amidon sphériques et simples entourés d'un *stroma* plastidial vert.

2° La zone II, dite profonde, formée de cellules irrégulières, larges, où l'on peut compter cinq à huit grains d'amidon simples plus ou moins gros, entourés d'une enveloppe plastidiale incolore.

3° La zone dite externe, limitée par l'épiderme externe dénué d'amidon; nous pouvons y compter trois couches de cellules polygonales plus petites et plus serrées qui contiennent chacune cinq à dix amyloplastes à inclusions multiples (six à dix très petits grains peuvent y être dénombrés).

Après *neuf jours* de germination (fig. 2), les cotylédons sont très verts du côté interne, violets du côté externe; les zones I, II et III ne se sont pas modifiées; cependant, le côté interne du cotylédón prend très rapidement une coloration noire quand on le plonge dans le réactif iodo-ioduré; c'est l'indice d'une teneur très forte en amidon dans la zone I.

1° Zone I. — Les cellules sont bourrées de gros grains d'amidon simples; nous en comptons jusqu'à trente par cellule, certains ayant des formes irrégulières; ils sont accom-

pagnés de plastes chlorophylliens plus petits, dans lesquels prennent naissance plusieurs grains d'amidon.

2° Zone II. — L'amidon a presque complètement disparu, le protoplasme est rempli de petites granulations lipidiques et de débris d'enveloppe plastidiale.

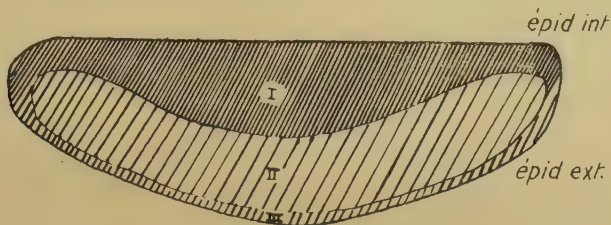


FIG. 2.

Répartition de l'amidon dans une coupe transversale de cotylédon après neuf jours de germination.

3° Zone III. — Les plastes continuent à élaborer de petits grains d'amidon, chacun arrive à en contenir jusqu'à trente.

Les cellules stomatiques sont très bien différenciées dans

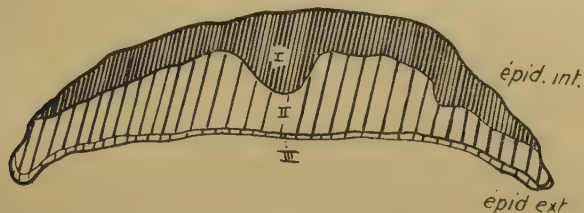


FIG. 3.

Répartition de l'amidon dans une coupe transversale de cotylédon après treize jours de germination.

l'épiderme externe, elles contiennent de gros chloroplastes sphériques élaborant chacun de petits grains d'amidon.

Lorsque la germination est très avancée (fig. 3), les cotylédons sont épuisés, leurs bords ont tendance à se replier du côté externe. Leur rôle actif dans la photosynthèse touche à sa fin, et la quantité d'amidon existante est moindre.

1° Zone I. — Elle est très réduite; l'amidon y est encore abondant dans les cellules les plus externes et dans les cellules bordant les vaisseaux; tous possèdent encore une enveloppe plastidiale très verte.

2° Zone II. — Elle s'est élargie au dépens de la zone I, et nous y observons de nombreux débris plastidiaux avec quelques rares grains d'amidon en voie de disparition.

3° Zone III. — Les grains d'amidon sont peu nombreux, les plastes qui les contiennent sont déformés; leur coloration à l'aide du réactif iodo-ioduré n'est pas franchement bleu-noir. Des débris plastidiaux parsèment le protoplasme.

LIPIDES

Le rouge Soudan est un excellent colorant des lipides des graines d'*Acacia dealbata* en germination; il nous a permis de bien suivre leur évolution qui nous a paru tout à fait classique; la lipolyse se manifeste tout d'abord dans les cellules de base du cotylédon. Ces cellules voient leurs globules lipidiques diminuer (le rouge Soudan les colore en orangé, l'acide osmique en brun); ils représentent bien l'huile en voie de disparition. Les cellules du sommet ne sont le siège d'une hydrolyse qu'après trois jours de germination.

Vers le septième jour, toutes les cellules parenchymateuses contiennent de minuscules granulations réfringentes, très mobiles, colorables en rouge vif par le rouge Soudan; ces granulations sont de plus en plus nombreuses jusqu'au douzième jour; cette abondance est en rapport avec la photosynthèse en pleine activité. Quelquefois même, il se forme de petites gouttelettes, mais leur présence est très fugace.

Quand les cotylédons terminent leur vie active, nous observons encore quelques petites granulations lipidiques dans les cellules parenchymateuses.

Etude après fixation

Cette étude nous a permis de suivre sur un matériel tué l'évolution du vacuome et du plastidome, et de vérifier qu'elle correspondait bien à ce que nous avons observé vitalement.

Les fixateurs utilisés sont les liquides de BOUIN, NAWASCHIN et REGAUD. Dans la graine mûre, l'aleurone est représenté dans le parenchyme par de gros grains peu chromophiles (fig. h, pl. XI). Cette chromophilie s'estompe pendant la germination (fig. i, pl. XI), et après six jours, la fusion vacuolaire est très avancée. Les vacuoles, peu concentrées, sont incolores, mais

la matière protéique précipite sous l'action du fixateur, sous forme de globules très chromophiles (fig. j, pl. XI) ; ces précipités disparaissent par la suite, quand les matières protéiques de réserve ont été utilisées.

Les grains d'amidon, dans la graine mûre, paraissent nus; sur une coupe fixée au liquide de REGAUD, leur enveloppe plastidiale n'est pas visible; si elle existe, elle doit être fine (fig. h, pl. XI).

Après six jours de germination, nous notons la présence de plastes contenant plusieurs grains d'amidon et de chloroplastes de volume plus réduit (fig. j, pl. XI).

Le chondriome observé au même moment sur une fixation au liquide de REGAUD (fig. j, pl. XI), s'est montré formé de mitochondries granuleuses et de filaments chromophiles.

ALBIZZIA JULIBRISSIN

Les graines d'*Albizzia Julibrissin* germent facilement et rapidement. Placées sur du coton imbibé d'eau, à une température de 22°, leur volume a doublé au bout de cinq heures; leur capacité d'imbibition est donc très grande. Vingt-quatre heures après, le tégument se déchire et laisse apparaître la racicule qui s'allonge régulièrement et atteindra rapidement de grandes proportions. Le bourgeon feuillu, encore jaune, croît lui aussi très rapidement, mais n'est pas encore visible, car les cotylédons sont encore accolés l'un à l'autre; ces derniers, jaunes qu'ils étaient au début, commencent à verdir; après cinq jours de germination, les cotylédons, d'un très beau vert, s'écartent et mettent à nu le bourgeon vert composé de petites feuilles pennées intriquées les unes dans les autres; parmi elles, celle qui est insérée sur l'axe au point le plus bas, se sépare des autres et atteint, vingt-quatre heures après, une longueur égale à celle des cotylédons; il est facile d'observer qu'elle est formée de deux rangées de cinq folioles. L'axe épicotylé continue à croître, et après douze jours de germination, nous obtenons une plantule composée :

1° D'une racicule incolore de 5 à 6 cm. de longueur, où s'insèrent de très longues et fines racicules secondaires terminées par une coiffe de couleur marron clair;

2° D'un axe hypocotylé, de 7 à 8 cm. de longueur, légèrement vert;

3° D'un axe épicotylé, de 3 à 4 cm., portant, à partir de sa base : les deux cotylédons verts, une feuille pennée (5-5) puis deux feuilles pennées (4-6) s'insérant au même point et terminé par un bourgeon abondamment pourvu de feuilles.

Cette nette évolution dans la morphologie de la plantule nous permettra de suivre facilement les transformations qui s'opèrent dans la cellule, car il nous sera très aisé de retrouver les stades étudiés si nous voulons vérifier une observation.

Etude vitale et postvitale

VACUOME

La technique utilisée consiste, pour l'étude des cellules épidermiques, à tremper des morceaux de cotylédons dans une solution de rouge neutre. Après quatre à cinq minutes, l'épiderme se colore en rouge; nous faisons ensuite une coupe tangentielle à sa surface, qui nous permet d'observer des cellules non lésées, donc colorées vitale-ment.

Quant aux cellules profondes, il nous faut pratiquer d'abord des coupes puis les colorer. L'observation de cellules vivantes est très difficile, car de très nombreuses sont lésées par le rasoir; toutefois, sur une coupe ainsi colorée, quelques cellules restent vivantes et peuvent se colorer vitale-ment.

Dans une graine mûre, gonflée par un passage d'une heure sur coton mouillé, l'aleurone se présente dans les cellules épidermiques sous l'aspect d'un grand nombre de petits grains homogènes, colorables vitale-ment en rouge par le rouge neutre (fig. i, j, k, pl. XII).

Le protoplasme est très réduit et le système vacuolaire occupe presque entièrement l'intérieur cellulaire.

Dans les cellules profondes, l'aleurone se colore vitale-ment, il est composé :

- 1° De petits grains homogènes colorés en rouge;
- 2° De gros grains homogènes de taille et de forme très inégales, colorés en rose orangé.

Le protoplasme, d'aspect granuleux, y est abondant.

Après vingt-quatre heures de germination, l'aspect de l'aleurone dans les cellules épidermiques a beaucoup évolué :

chaque cellule présente quatre à six gros grains, que le rouge neutre colore en rose en précipitant à leur intérieur la matière protéique sous forme de petits globules de coloration rouge vif (fig. a, pl. XIII). Si, à ce stade, nous traitons les cellules épidermiques par le réactif iodo-ioduré, le contenu des grains d'aleurone hydratés précipite sous forme de gros globules ou d'éléments bosselés de couleur jaune (fig. a', pl. XIII).

Les cellules parenchymateuses cotylédonaire ne présentent pas de changement quant à leur aleurone; ce dernier se colore vitalement en rose orangé sans précipitation; le réactif iodo-ioduré le colore uniformément en jaune.

Après quarante-huit heures, la transformation des grains d'aleurone en vacuoles dans les cellules épidermiques est presque terminée; chaque cellule contient une ou deux vacuoles, se colorant en rose pâle par le rouge neutre avec légère précipitation de la matière aleurique (fig. b, pl. XIII). Le réactif iodo-ioduré donne toujours lieu à des précipités vacuolaires de diverses formes (fig. b', pl. XIII).

Le rouge neutre colore vitalement et uniformément en rose orangé les grosses vacuoles des cellules parenchymateuses (fig. c, pl. XIII).

A mesure que la germination avance, la fusion des vacuoles progresse, leur dilution augmente, leur concentration diminue. Vers le sixième jour, les vacuoles des cellules épidermiques se colorent uniformément en rose pâle, et le réactif iodo-ioduré ne donne plus lieu à des précipitations.

Le stade univacuolaire est atteint dès le cinquième jour chez ces cellules, vers le septième chez les cellules parenchymateuses.

Les cotylédons, encore bien vivants, sont alors très verts, le plastidome occupe dans la cellule parenchymateuse une grande place; il devient l'élément dominant. Nous avons ainsi pu suivre l'évolution des grains d'aleurone pendant la germination de cette graine de *Mimosée*; cette évolution est classique : l'aleurone se dilue et s'hydrolyse peu à peu. Il précipite quelquefois dans les vacuoles, sous l'action du colorant vital ou du réactif iodo-ioduré dans les cellules épidermiques; le vacuome réapparaît ainsi par fusion progressive des grains d'aleurone. On peut donc affirmer que les vacuoles de la planicule représentent un état évolué de l'aleurone formé au cours de la maturation.

PLASTIDOME

Le plastidome, dans la graine mûre et germée, tient une place prépondérante; une étude vitale à l'aide du rouge neutre montre, entre les grains d'aleurone des cellules parenchymateuses cotylédonaire d'une graine mûre, des organites ronds, de taille plus ou moins grande, non colorables vitalement; les plus petits ont une réfringence vert pâle : ce sont des chloroplastes très peu pigmentés; les plus gros, incolores, possèdent une inclusion simple colorable en noir par le réactif iodo-ioduré; ils représentent des amyloplastes; on peut en compter dix à quinze par cellule.

Nous avons enfin observé la présence de petits éléments incolores, peu réfringents, difficiles à déceler, et que nous pouvons considérer comme des leucoplastes.

Dans les cellules épidermiques observées vitalement avec le rouge neutre, il est difficile d'y reconnaître les plastes, car les grains d'aleurone emplissent la cellule; seul le réactif iodo-ioduré permet de mettre en évidence dans chaque cellule un à quatre petits plastes amylofères.

Dans la graine germée, l'évolution du plastidome est simple à suivre si l'on a bien mis en évidence dans les cellules parenchymateuses de la graine mûre, les principaux constituants :

- a) Les plastes amylofères;
- b) Les plastes faiblement chlorophylliens;
- c) Les leucoplastes, surtout caractérisés par leur petite taille.

Dès les premières heures de germination, nous n'observons pas de changement, si ce n'est le gonflement assez important des plastes, qui nous permet de bien apercevoir les petits leucoplastes.

Le stade vingt-quatre heures ne présente pas non plus de différence, nous n'y voyons ni amylogénèse, ni amylolyse. Il faut arriver au stade cinquante-cinq heures pour voir s'amorcer l'hydrolyse de l'amidon chez les plastes; ceux-ci, ronds ou ovales, prennent des formes irrégulières en même temps que l'inclusion diminue de volume. Par contre, nous voyons apparaître, mais en petit nombre, et à l'aide du réactif iodo-ioduré, dans le fond granuleux du protoplasme, de très petits grains

d'autres en brun clair avec aspect ponctué (fig. A) ; ce dernier aspect correspond à un stade inférieur de polymérisation de l'amidon.

L'aspect des plastes amylières dans les cellules profondes cotylédonaire, diffère de celui décrit précédemment ; l'enveloppe plastidiale est réduite à une fine pellicule, quelquefois s'épaississant en un point ; souvent même elle n'est pas visible quand on a fait agir le réactif iodo-ioduré ; en général, l'inclusion y est simple.



FIG. A.

Action du réactif
iodo-ioduré sur
un grain d'ami-
don composé.

Cellules stomatiques. — Dans la graine mûre, les cellules stomatiques jeunes renferment, à côté de minuscules grains d'aleurone, quelques petits leucoplastes. Pendant la germination, ces derniers se divisent activement, verdissent, et certains d'entre eux accumulent de l'amidon à l'état de grain toujours simple. Vers le neuvième jour, les cellules renferment de gros grains d'amidon simples à enveloppe plastidiale assez épaisse et très verte, et quelques plastes uniquement chlorophylliens.

Le tableau ci-contre donne un aspect général du plastidome cotylédonaire dans une plantule de neuf jours.

Le tableau qui précède donne un aspect général du plastidome cotylédonaire dans une plantule de neuf jours.

Le verdissement des cotylédons, qui est ici très précoce puisqu'il débute environ après cinquante heures de germination, est dû non pas aux plastes amylières de la graine mûre, qui disparaissent rapidement en cessant toute activité, mais aux rares chloroplastes et aux petits leucoplastes qui augmentent de volume, verdissent, en même temps qu'ils élaborent de l'amidon.

Par son évolution, le plastidome des graines d'*Albizzia Julibrissin* peut être rapproché de celui observé par P. DAN-GEARD chez les graines de Fève et de Haricot.

CHONDRIOME

Son étude dans la graine mûre n'est guère possible, à cause de l'abondance des réserves protéiques et amylacées. Dans une graine germée de six jours, nous l'avons observé vitalement sans le concours de colorant (fig. g', pl. XIII). Il est

formé de nombreuses mitochondries granuleuses accompagnées de formes en bâtonnets ne dépassant pas 2μ de longueur. Il est très différent du plastidome et peut être comparé au chondriome des graines d'*Acacia dealbata*.

	Plastes amylières.	Chloroplastes.	Leucoplastes.
	Réactif iodo-ioduré		
Cellules épidermiques			
nombre par cellule	1 à 4		1 à 4
Cellules stomatiques			
nombre par cellule :	6 à 10	3 à 6	
Cellules du parenchyme palissadique			
nombre par cellule	20 à 25	4 à 8	rare
Cellules du parenchyme profond			
nombre par cellule :	20 à 25	2 à 4	rare
Cellules bordantes des vaisseaux			
nombre par cellule :	30 à 50	rare	

Aspect général du plastidome cotylédonaire dans une plantule de neuf jours.
Albizzia Julibrissin.

LIPIDES

Dans la graine mûre, l'huile est représentée dans les cellules profondes cotylédonaire par de gros globules, très réfringents, prenant une forme allongée quand ils se trouvent serrés entre les grains d'aleurone ou d'amidon. Le rouge Soudan les colore en rouge orangé, et l'acide osmique en gris foncé.

Les cellules épidermiques contiennent quelques rares granulations lipidiques colorables en rouge vif par le rouge Soudan.

Au début de la germination, les globules d'huile diminuent peu à peu de volume; dès le troisième jour, nous n'observons

plus qu'une ou deux gouttelettes de petite dimension; vers le cinquième jour, les cellules contiennent, comme élément huileux, de très petites granulations; le nombre de celles-ci augmente ensuite très rapidement, surtout dans les cellules du parenchyme palissadique; leurs mouvements désordonnés au sein du protoplasme et leur vive réfringence les rend nettement visibles; cette légère augmentation de la quantité d'huile, liée au verdissement des cotylédons, est un des résultats de l'activité chlorophyllienne.

Etude après fixation

Nous avons effectué sur la graine germée des fixations à l'aide des liquides de BOUIN et de REGAUD.

Dans la graine mûre, l'aleurone est représenté par des grains chromophiles plus ou moins gros (fig. j, k, pl. XIII). Après quarante-huit heures de germination, le contenu des grains d'aleurone s'est dilué; sa concentration plus faible entraîne une chromophilie moins accusée; aussi, les vacuoles aleuriques prennent une teinte grise (fig. l, pl. XIII). Quand la germination est très avancée, les vacuoles très diluées ne sont plus chromophiles et forment dans les cellules de grandes plages incolores.

Nous n'avons jamais observé, durant cette évolution, de précipitations vacuolaires; la matière protéique aleurique est donc stable vis-à-vis des fixateurs employés.

Les grains d'amidon de la graine mûre sont entourés d'une fine pellicule chromophile, épaissie quelquefois sur une certaine surface (fig. j, pl. XIII). Après quarante-huit heures de germination, ces grains, gonflés au maximum, n'ont pas encore subi d'hydrolyse, mais le *stroma* plastidial qui les entoure n'est plus continu, et quelquefois même semble être inexistant (fig. l, pl. XIII). A côté d'eux, nous pouvons apercevoir des petits organites chromophiles représentant de petits leucoplastes; ces éléments sont conservés par le fixateur de BOUIN; leur volume, aussi faible soit-il, ne peut les faire confondre avec les éléments du chondriome. Ce dernier se retrouve ici identique à celui observé avant maturité : mitochondries granuleuses très abondantes et petits bâtonnets quelquefois empâtés par l'hématoxyline. Cet ensemble est à rapprocher du chondriome des graines d'*Acacia déalbata*.

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE CHIMIQUE

HISTORIQUE

L'élaboration des substances de réserve dans les graines en voie de maturation et leur devenir pendant la germination ont fait l'objet de nombreux travaux. Les auteurs se sont appliqués à suivre chaque substance et aussi à expliquer les corrélations qu'il pouvait y avoir entre elles au cours de leur évolution.

Les plus anciens travaux parus à ce sujet sont ceux de SACHS (1859) ; cet auteur fut le premier à découvrir la production d'amidon dans la germination des graines oléagineuses. Pour lui, les matières grasses qui disparaissent pendant cette période donnent naissance au glucose et à l'amidon ; d'un autre côté, lors de la maturation, l'amidon et le glucose donneraient évidemment naissance à des matières grasses. L'huile joue donc le rôle de forme stable des principes élaborés ; d'autres substances telles que la mannite, les tannins, les glucosides peuvent donner naissance à de la cellulose et à des matières grasses.

Ainsi, pour SACHS, il y a une liaison intime entre les substances hydrocarbonées et les matières grasses, qui se transforment réciproquement les unes dans les autres. (Ces idées sont à l'origine de la vieille théorie des « Chaînes d'hydrates de carbone », restée longtemps en vogue en Allemagne.) Il nous faut remarquer que cet auteur a suivi cette évolution à l'aide d'une technique microscopique insuffisante puisqu'il n'avait comme instrument d'investigation que l'iode pour l'amidon, l'action de l'acide sulfurique (méthode de PAYEN) pour les huiles, et la liqueur cupro-potassique pour localiser les substances sucrées,

Ed. PETERS (1861), à l'aide d'analyses chimiques, confirma les résultats de SACHS.

Le grand mérite de ces deux auteurs est aussi d'avoir fait une étude histologique et chimique et d'avoir essayé de contrôler l'une par l'autre.

S. DE LUCA (1861), étudiant la formation de la matière grasse dans l'olive, conclut que la diminution de la mannite était sans aucun doute en relation avec l'apparition de l'huile.

A. GRIS (1864), après un travail sur la maturation et la germination, conclut, contrairement à SACHS, que les matières de réserve des graines, aleurone, huile, amidon, sont totalement indépendantes les unes des autres, quant à leur formation et leur résorption.

MUNTZ (1871, 1886), étudiant la maturation et la germination des graines de Colza et de Pavot, émit l'idée que les matières grasses qui se déposent très rapidement dans les tissus un peu avant maturité ont comme origine les hydrates de carbone, notamment le glucose.

FLEURY (1865) observa nettement dans la germination des graines de Colza, moins bien dans celles d'Amandes douces et d'Epurge, une diminution d'huile et une augmentation de sucres et de dextrine. Il conclut, néanmoins, que les huiles grasses donnent naissance à des sucres, de la dextrine et à de la cellulose.

C. GERBER (1897), reprenant les travaux de S. DE LUCA sur la formation de l'huile dans l'olive, démontra, à l'aide de

mesures de quotient respiratoire ($Q = \frac{CO_2}{O_2}$), que, puisque Q

est supérieur à l'unité pendant la maturation, et que les matières sucrées diminuent pendant que les corps gras augmentent, ces derniers proviennent de la transformation des premiers.

E. MESNARD (1894) conçut différemment la genèse de l'huile dans les graines; il considère que l'huile s'accumulant dans les graines provient de toutes les parties vertes de la plante, et qu'elle est un produit de l'activité du plasma chlorophyllien; son origine est donc strictement indépendante des autres matériaux de réserve.

HECKEL (1896) rechercha l'origine des matières grasses

dans l'acide formique produit par oxydation de l'aldéhyde méthylque; pour cet auteur, cet acide agissant sur l'acide cyanhydrique, donnerait un nitrile qui, sous l'action de divers agents (certains ferments en particulier), se transformerait en acide de poids moléculaire plus élevé, et ainsi de suite par une chaîne de réactions, se formeraient les acides gras qui entrent dans la constitution des matières grasses; leur origine toute première serait la même que celle des sucres.

LECLERC DU SABLON, en 1897, fit une étude complète de la germination des graines oléagineuses; analysant le Ricin, le Chanvre, le Lin, le Colza, l'Arachide, l'Amande, il nota une diminution des matières grasses corrélative à une augmentation de glucose, et admit la transformation des acides gras libérés par hydrolyse de la molécule grasse en saccharose puis en glucose directement assimilable.

L'amidon transitoire qui prend naissance pendant la germination des graines oléagineuses ne semble pas, d'après lui, être un intermédiaire entre l'huile et le glucose, ce serait « une réserve provisoire formée par les produits digérés et qui va bientôt être assimilée ».

Pendant la maturation des graines de Soja et de Ricin, il observa des transformations inverses, d'abord beaucoup de sucres et peu d'huile, puis les sucres diminuent alors que l'huile augmente.

MAQUENNE (1898) obtint les mêmes résultats en faisant germer de l'Arachide et du Ricin, et, comme il l'exprima : « la destruction des corps gras et l'apparition simultanée des sucres s'observent, comme on le sait, pendant la germination des graines oléagineuses, et par conséquent paraissent être un phénomène d'ordre général en physiologie ».

C. VALLÉE (1903), étudiant la formation de l'huile dans l'Amande, y mit en évidence le saccharose, suivit son évolution ainsi que celle des sucres réducteurs et de la matière grasse; il conclut que le saccharose et le glucose seraient à l'origine de la matière grasse.

Parmi les travaux récents effectués sur les graines oléagineuses, se placent ceux de LEMARCHANDS (1929), sur la graine de Soleil (*Helianthus annuus*); ses recherches portent essentiellement sur la transformation des matières grasses pendant la germination. Il mit en évidence leur saponification avec

mise en liberté des acides gras, puis l'oxydation des acides gras non saturés donnant naissance à des corps aldéhydiques et à du CO_2 ; ce travail, comme il le souligne lui-même, est « une introduction à l'étude du problème capital et si peu connu encore de la transformation des matières grasses en hydrates de carbone dans les graines oléagineuses ».

J. HOUGET (1942), reprenant la germination du Ricin, y suivit l'évolution des sucres réducteurs et non réducteurs, il nota l'augmentation, au bout du troisième jour, des sucres non réducteurs; il conclut en émettant l'hypothèse que le saccharose serait peut-être le premier sucre formé lors de la transformation des graisses, et que les autres glucides dériveraient de lui.

Ainsi, la plupart des travaux précédents, effectués sur les graines oléagineuses, tendent à démontrer le rapport hydrates de carbone-matières grasses, et même à réunir leur évolution puisque leur transformation est réciproque quand on étudie la maturation et la germination.

Les graines non oléagineuses ont fait l'objet de peu de recherches; les auteurs qui ont abordé le problème n'en ont pas fait une étude complète, et les conclusions qu'ils ont tirées n'ont pas été étendues à la généralité de ces graines.

Parmi les chercheurs, il nous faut citer : SACHS, PORTÈLE, MESNARD, LECLERC DU SABLON, BELVAL; le premier, SACHS, laisse entrevoir que, si dans la germination des graines oléagineuses, l'huile donne naissance à de l'amidon transitoire, c'est l'amidon de réserve qui en est à l'origine dans les graines amylacées.

PORTÈLE (1885), étudiant la formation des grains de Maïs, constate la diminution des sucres solubles et l'augmentation des polysaccharides; il conclut que l'amidon formé tire son origine des sucres solubles.

H. BELVAL (1924) confirme ces résultats après des travaux sur le Maïs, l'Orge et le Blé.

MESNARD (1894) considère que la matière grasse dans les graines oléagineuses et de Graminées peut provenir de l'activité du plasma chlorophyllien, mais dans certains cas (Ricin, Chanvre, Noix), elle serait intimement liée à la production des matières albuminoïdes. Pendant la maturation, l'huile apparaît au moment où les grains d'aleurone se déshydratent;

elle exsude à travers les grains et apparaît libre dans le protoplasme. Les matières albuminoïdes sont aussi, d'après lui, un solvant des matières grasses, mais n'en seraient pas cependant l'origine, leur liaison étant purement d'ordre physique.

LECLERC DU SABLON, en prenant pour exemples les graines de *Gleditschia triacanthos* et de *Sophora Japonica*, conclut que le glucose qui apparaît pendant la germination s'est formé au dépend des hydrates de carbone de la graine mûre.

La liaison qui unit les matières grasses et les hydrates de carbone dans les graines oléagineuses, est moins nette, d'après ces derniers résultats, dans les graines non oléagineuses; il semblerait même que, dans certains cas, leur évolution respective soit indépendante l'une de l'autre.

Dans ces trente dernières années, aucune étude complète et comparative n'a été faite, à notre connaissance, sur l'évolution des hydrates de carbone, des matières grasses et leurs rapports réciproques; les travaux parus pendant cette dernière période traitent séparément des glucides ou des lipides; ainsi, MICHEL-DURAND (1918) puis FRANQUET (1932) suivent l'évolution des glucides dans les grains de Haricot; DE CUGNAC (1930), dans les graines de Graminées; COLIN (1935) extrait les lipides et les dose pendant la germination dans les Lentilles.

Rares aussi sont les travaux, qu'ils soient anciens ou récents, effectués sur l'évolution des matières organiques azotées dans les graines en formation et pendant leur germination. Leur rapport avec les autres substances de réserve : matières grasses et hydrates de carbone, sont également mal connus. MESNARD (1894) nota seulement que les matières albuminoïdes sont, dans certains cas, des solvants des matières grasses, et que ces dernières suivent leur évolution.

MAQUENNE (1898) est un des rares auteurs qui aient effectué une étude complète des différentes substances de réserve dans les graines oléagineuses en germination, mais il constate seulement les faits et ne cherche pas à les expliquer.

MICHEL-DURAND (1918) mit en évidence, dans la maturation des graines de Haricot nain « variété Soissons », un taux d'amidon maximum un peu avant la maturité complète; il donne diverses explications de cette anomalie :

1° La petite disparition d'amidon serait utilisée pour le développement de l'embryon;

2° La substance amylacée se transformerait, en fin de maturation, partiellement en albuminoïdes (en particulier les grains d'aleurone);

3° Une partie de l'amidon passerait à l'état de gommages ou de mucilages.

Ainsi, la petite résorption d'amidon, en fin de maturation, pourrait donner naissance à des matières organiques azotées.

But de l'étude chimique

L'évolution des lipides et des glucides dans les graines non oléagineuses en formation et en germination, ainsi que leurs rapports réciproques, n'ont pas fait l'objet d'études complètes; de même l'élaboration de la matière protéique en vue de la formation des grains d'aleurone, puis son hydrolyse dans les graines germées n'ont pas été étudiées dans ces graines.

Nous nous proposons de suivre les transformations que subissent ces trois substances de réserve pendant leur formation puis pendant leur hydrolyse; nous verrons les rapports qui peuvent exister entre elles, et nous comparerons les résultats avec les observations faites dans l'étude cytologique.

Nos recherches ont porté sur trois graines de Légumineuses possédant chacune des réserves d'importance différente :

1° *Cercis siliquastrum*;

2° *Cytisus alpinus*;

3° *Dorycnium suffruticosum*.

La matière protéique de réserve existe sous forme de grains d'aleurone dans ces trois graines : à côté d'elle, l'huile est assez abondante chez le *Cytisus alpinus*; l'amidon occupe une grande place chez le *Dorycnium suffruticosum*; la cellulose épaissit notablement les membranes des cellules de l'albumen du *Cercis siliquastrum*.

TECHNIQUE

I. — DOSAGE DE LA MATIÈRE SÈCHE

80 à 100 graines sont d'abord coupées au scalpel en petits morceaux, puis placées dans des tubes pyrex, tarés. Elles sont ensuite pesées et enfermées dans une étuve à 100° C.

Vingt-quatre heures après, elles sont suffisamment desséchées pour les broyer au moulin. Elles sont ensuite replacées dans les tubes que l'on remet dans l'étuve à 100° C. Au bout de trois jours, les graines sont complètement desséchées.

Avant de peser les tubes avec leur poudre de graines desséchées, on les place dans un récipient où l'on fait le vide à l'aide d'une trompe; c'est une précaution à prendre car, au sortir de l'étuve, l'humidité de l'air se condense sur la poudre et fausse les résultats.

Un séjour dans un dessiccateur à acide sulfurique est nécessaire si on ne pèse pas de suite les tubes.

II. — DOSAGE DES LIPIDES

Nous avons utilisé la technique de KUMAGAWA et SUTO. Le dosage comporte deux temps :

1° La fixation des graines,

2° L'extraction.

1° *Fixation des graines.* — Un certain poids de graines est haché très finement, pesé et fixé dans dix fois son poids d'alcool absolu bouillant; l'alcool d'épuisement est séparé, le résidu est épuisé dans l'appareil de KUMAGAWA.

2° *Extraction.* — Nous avons utilisé un microkumagawa. La substance épuisée et finement divisée est déposée dans la cartouche de l'appareil que l'on place dans la petite nacelle à

siphon en verre, en ayant soin de garnir le fond d'un morceau de coton, de manière à ce que le bord de la cartouche se trouve légèrement au-dessus du siphon (on place généralement au-dessus de la matière première, une rondelle de papier filtre percée de petits trous d'épingle, afin que le solvant condensé se répartisse uniformément sur la matière).

Le tout est mis dans le ballon contenant le liquide extracteur, au-dessus duquel on installe le réfrigérant.

L'appareil est placé sur un réchaud électrique.

L'extraction se fait en deux étapes :

a) Un premier solvant : l'alcool, dénature les complexes lipidiques en rompant leur liaison avec les protides et les glucides, et dissout une partie des lipides ;

b) Un deuxième solvant : tel que éther ou benzène, dissout les lipides détachés et solubilise complètement tous les lipides.

Les extraits obtenus ne contiennent pas seulement les matières grasses, mais aussi d'autres substances cellulaires telles que sels minéraux, glucides et protides de faible poids moléculaire qu'il faut séparer des lipides extraits; pour cela, on utilise un troisième dissolvant, comme le chloroforme, qui ne dissout que les lipides à condition que le traitement se fasse sur un extrait entièrement déshydraté.

En résumé, les principales étapes de ce dosage sont les suivantes :

1° Fixation des graines dans l'alcool absolu bouillant; l'alcool est séparé;

2° Extraction au microkumagawa, pendant un temps déterminé, du résidu par l'alcool absolu;

3° Les différentes portions d'alcool sont évaporées à sec, sous vide, pour éliminer l'eau et éviter toute oxydation;

4° Le résidu sec est repris par l'éther sulfurique anhydre et épuisé pendant un certain temps;

5° Le liquide éthéré est évaporé sous vide pour éviter l'oxydation des lipides;

6° Le résidu est repris par le chloroforme anhydre, on filtre la solution sur un petit filtre de papier; on rince plusieurs fois le filtre au chloroforme;

7° La solution chloroformique filtrée est évaporée au bain-marie et sous vide;

8° Le résidu est pesé, de nouveau évaporé jusqu'à poids constant.

Ce poids nous donne le taux de lipides totaux contenus dans le matériel pesé au début de l'opération.

III. — DOSAGE DES GLUCIDES

Les glucides étudiés sont :

- Les glucides solubles, réducteurs initiaux;
- Les glucides hydrolysables;
- L'amidon.

L'opération se fait en deux temps :

1° L'extraction;

2° Le dosage proprement dit.

1° *Extraction*. — Elle est précédée d'une stabilisation : les graines, finement divisées, sont introduites dans un ballon muni d'un réfrigérant ascendant; on ajoute de l'alcool à 90° bouillant et une pincée de carbonate de calcium qui neutralise l'acidité (sinon une légère hydrolyse acide peut résulter); l'ébullition est maintenue pendant une heure.

On obtient un liquide alcoolique A. Un résidu a.

Le résidu a est broyé de nouveau et repris par l'alcool à 90° bouillant, deux fois de suite pendant vingt minutes; on filtre après chaque ébullition; on obtient : un liquide alcoolique B', un résidu b.

On réunit les deux liquides : A + B', soit B le nouveau mélange.

Le liquide alcoolique B renferme tous les sucres solubles.

Le résidu b renferme les sucres insolubles : amidon, celluloses, hémicelluloses, etc.

2° *Dosages*. — a) Sucres solubles. — L'alcool est séparé du liquide B par distillation sous pression réduite à la température de 50°. le résidu est repris par l'eau; on obtient une solution C :

Sur une partie aliquote C', on dose les sucres réducteurs initiaux;

Sur une partie aliquote C'', on dose les sucres hydrolysables.

La solution C'' est additionnée de 1 p. 100 d'acide sulfu-

rique; on réalise une hydrolyse acide des sucres pendant une heure et demie à la température de 100° ; on obtient les sucres solubles totaux (par soustraction des sucres réducteurs initiaux, on aura les sucres hydrolysables).

b) Amidon. — Le résidu b d'épuisement des graines est égoutté de toute trace d'alcool, broyé finement et traité par une solution à 1 p. 100 d'acide sulfurique pendant une heure et demie, à la température de 120° ; on réalise ainsi une hydrolyse acide de l'amidon.

Dans les deux cas précédents, les sucres se trouvent, en fin de réaction, à l'état de sucres réducteurs; on les dosera par la méthode de BERTRAND, rappelons-en le principe :

La solution contenant les sucres réducteurs à doser est préalablement neutralisée à l'aide d'une solution de soude caustique, puis déféquée au moyen de quelques gouttes de solution au tiers d'acétate de plomb; on laisse reposer puis on ajoute quelques gouttes de la solution précédente jusqu'à ce qu'il ne se forme plus de trouble. On filtre sur Buchner, on lave le filtre à l'eau chaude; le filtrat est traité par une solution au tiers de sulfate de soude qui précipite le plomb en excès; on filtre à nouveau; on prélève dans un erlenmeyer 20 cm^3 de filtrat, on y ajoute 20 cm^3 de solution cuprique et 20 cm^3 de solution tartrique alcaline; on maintient l'ébullition pendant trois minutes, puis on laisse reposer le précipité rouge d'oxyde cuivreux formé; on filtre sur G 4 en s'aidant de la trompe à vide, et on lave l'erlenmeyer à l'eau distillée, afin d'éliminer les dernières traces de précipité.

Le précipité est dissous dans une solution de sulfate ferrique qui est réduite en partie en sulfate ferreux, lequel est dosé à l'aide d'une solution titrée de permanganate de potassium.

IV. — DOSAGE DES MATIÈRES ORGANIQUES AZOTÉES

Nous nous sommes inspiré de la technique de KJELDAHL modifiée par POLONOWSKI et VALLÉE et de celle de R. COMBES.

L'opération se fait en deux temps :

1° L'extraction - séparation;

2° Le dosage proprement dit.

1° *Extraction - séparation.* — Les graines sont desséchées à l'étuve à 95° pendant quarante-huit heures environ, puis réduites en poudre au mortier.

La poudre ainsi préparée est traitée par une solution aqueuse d'acide trichloracétique à 10 p. 100 qui coagule les substances azotées de poids moléculaire élevé : tels les protides, et dissout les substances azotées de faible poids moléculaire tels qu'acides amidés, nitrates, nitrites, amides, etc.

Le traitement de l'acide trichloracétique nécessite trois macérations : une d'une heure, deux de quarante-cinq minutes.

Chacune est suivie d'une filtration avec essorage à la trompe.

Les macérations sont les opérations les plus délicates; mieux elles seront effectuées, plus l'azote soluble sera extrait à son maximum; ainsi, il est nécessaire de triturer le mélange toutes les dix minutes pendant les macérations.

La filtration est faite avec un Buchner contenant un filtre bleu sans cendres; on lave le filtre avec la solution d'acide trichloracétique, puis à l'eau distillée.

Les filtrats sont recueillis et constituent la liqueur S contenant les substances azotées solubles.

Le résidu I N S contient la partie protéique.

2° *Le dosage proprement dit :*

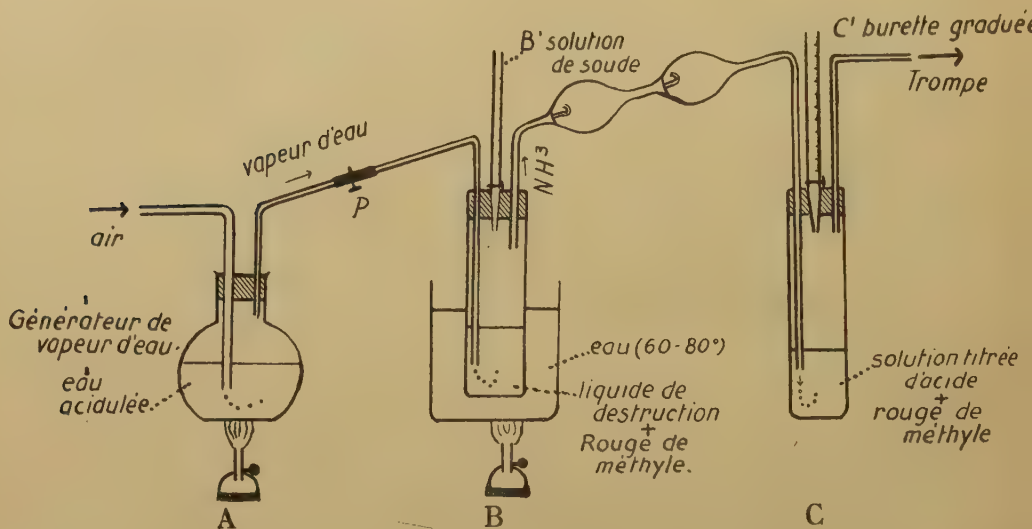
a) N protéique. — Le résidu I N S contient l'N insoluble à l'état d'N organique. Le procédé employé consiste à le minéraliser en présence d'acide sulfurique et d'un catalyseur convenable, sous forme de sulfate d'ammoniaque; on déplacera par la soude l'ammoniac que l'on entraînera par distillation par un courant de vapeur d'eau dans une solution titrée d'acide; en dosant l'excès d'acide, on déduira l'ammoniac et, par suite, l'N protidique contenu dans la prise d'essai.

Nous décrirons le mode opératoire que nous avons suivi et l'appareil que nous avons utilisé :

α. *Appareil.* — Le schéma est réalisé ci-après (voir p. 120).

β. *Mode opératoire.* — Le résidu I N S est placé dans un kjeldahl contenant 3 cm³ d'acide sulfurique et une pincée du catalyseur de MARCELET et DUMAZERT à base de sélénium; on chauffe sous hotte, d'abord légèrement, pour éliminer la vapeur d'eau se condensant sur les parois de l'appareil, puis

le col de kjeldahl est recouvert d'un petit entonnoir afin d'éviter le départ des fumées blanches d'acide sulfurique; le temps de destruction est en général variable; avec notre matériel d'étude, il nous faut sept à huit heures. Le liquide de destruction est alors décoloré; on laisse encore deux heures la destruction se terminer complètement, on laisse refroidir le ballon; on verse ensuite le liquide de destruction dans le



tube B de l'appareil décrit précédemment, après avoir eu soin de laver avec un jet de pissette l'intérieur du ballon de kjeldahl; on ajoute au liquide quelques gouttes de solution de rouge de méthyle.

On met dans le tube C 10 cm³ de solution d'acide sulfurique N/50 additionnée de quelques gouttes de solution de rouge de méthyle.

L'appareil étant convenablement placé, on chauffe le ballon A générateur de vapeur d'eau, le ballon B est chauffé à une température de 60°-80°. On fait actionner la trompe à vide.

Par le tube B', on ajoute goutte à goutte, dans le tube B, une solution de soude à 25 g. p. 100, jusqu'à virage au jaune de l'indicateur, on dépasse légèrement le virage afin d'être en milieu alcalin,

On règle la pince P, de manière que l'entraînement se fasse lentement, bulle par bulle.

L'opération est terminée au bout de quarante minutes environ; à l'aide d'un bec bunsen, on chauffe rapidement le tube à boule pour entraîner les vapeurs d'eau qui s'y seraient condensées et auraient dissous un peu d'ammoniac; on enlève le tube à boule, et on arrête le chauffage et le vide.

La burette graduée C' est remplie d'une solution de soude N/50 et on titre l'excès d'acide contenu dans le tube C, soit n cm³ de solution de soude N/50 nécessaire.

On titrera auparavant 10 cm³ d'acide sulfurique N/50 avec la même liqueur, pour connaître la teinte exacte de fin de dosage.

$(n-10) \times 0,28$ représente le nombre de milligrammes d'azote pour la prise d'essai.

$(n-10) \times 0,28 \times 6,25$ sera le taux de protides correspondant à la prise primitive.

b) N soluble. — La liqueur S est évaporée dans une étuve réglée à 60°-70°; sur le résidu, on opère la destruction et le dosage comme en a.

c) N total. — Sur la poudre desséchée de graine, on pratique directement la destruction et le dosage comme en a.

Dosage de la cellulose. — Nous avons dosé secondairement la cellulose. Le principe du dosage est le suivant : si l'on traite la matière à analyser par une solution d'acide sulfurique à 1 p. 100 à l'ébullition pendant un certain temps, toutes les parties constituantes de la matière sont solubilisées à l'exception de la cellulose qui peut être ainsi dosée.

Mode opératoire. — On opère sur 2 g. de substance que l'on placera dans un erlenmeyer avec 200 cm³ d'acide sulfurique à 1 p. 100; l'ébullition est maintenue pendant quatre heures; on laisse ensuite refroidir et on filtre sur filtre bleu sans cendre. On lave le résidu à l'eau distillée jusqu'à ce que les eaux de lavages ne précipitent plus avec une solution de chlorure de baryum; on sèche le filtre à l'étuve; on le pèse, soit P son poids.

$P = \text{cellulose} + \text{matières minérales.}$

On calcine le tout dans un creuset de platine : le résidu P correspond aux matières minérales.

D'où $P - p$ donnera le poids de cellulose contenu dans la prise d'essai.

RECHERCHES PERSONNELLES

CHAPITRE PREMIER

LIPIDES

Avant de suivre cette évolution, nous avons mis au point la technique opératoire d'extraction des lipides dans les trois espèces de graines étudiées :

Cercis siliquastrum;

Cytisus alpinus;

Dorycnium suffruticosum.

L'étude a été faite sur des graines mûres.

CHOIX DU SOLVANT

Nous avons d'abord, à titre d'essai, utilisé la technique d'extraction à l'aide de l'appareil de Soxhlet et de l'éther sulfurique comme solvant.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant.

La cartouche utilisée avait un volume de 5 cm³, et l'extraction durait six heures.

	Poids sec (en g.)	Lipides extraits (en g.)	Pourcentage de lipides du poids sec
<i>Cercis siliquastrum</i> ...	0,808	0,097	12,00
<i>Dorycnium suffruticosum</i>	0,808	0,065	8,04
<i>Cytisus alpinus</i>	1,130	0,230	20,35

Nous avons ensuite réalisé l'extraction avec un microkumagawa muni d'une cartouche de 5 cm³, avec l'alcool absolu bouillant comme liquide extracteur, pendant six heures.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

	Poids sec (en g.)	Lipides extraits (en g.)	Pourcentage de lipides du poids sec
<i>Cercis siliquastrum</i> ...	0,808	0,105	12,98
<i>Dorycnium suffruticosum</i>	0,808	0,070	8,66
<i>Cytisus alpinus</i>	1,130	0,240	21,23

En comparant les deux tableaux, nous voyons que l'extraction au Soxhlet n'est pas complète, tandis que l'alcool bouillant utilisé dans un kumagawa libère les lipides des complexes et permet leur presque entière dissolution. Nous verrons par la suite que l'alcool ne suffit pas et doit être suivi d'une extraction avec un autre solvant.

Temps d'extraction. — Le matériel que nous avons utilisé n'a pas fait l'objet, à notre connaissance, d'études antérieures, nous avons dû déterminer le temps nécessaire pour extraire au maximum les lipides contenus dans ces graines.

Nous avons fait varier la durée de l'action de l'alcool bouillant d'une à huit heures dans le microkumagawa muni d'une cartouche de 5 cm³.

Les poids de lipides extraits sont consignés ci-après.

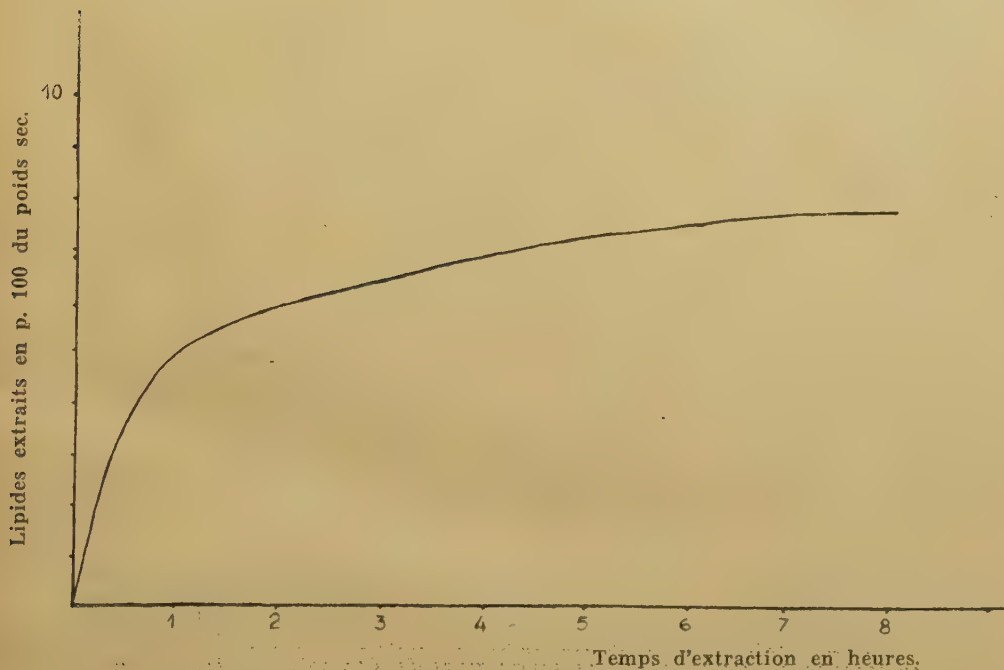
Dorycnium suffruticosum, poids sec : 0,804 g.

Temps d'extraction (en heures)	Lipides extraits (en g.)
1	0,049
2	0,056
3	0,061
4	0,065
5	0,068
6	0,070
7	0,071
8	0,071

Nous pouvons tracer une courbe d'extraction des lipides en fonction de la durée.

La courbe indique qu'il faut au moins sept heures pour obtenir une bonne extraction des lipides de *Dorycnium suffruticosum*.

Nous avons refait les mêmes expériences avec les graines de *Cercis siliquastrum* et de *Cytisus alpinus*; les chiffres obtenus sont très peu différents.



Courbe d'extraction des lipides à l'aide de l'alcool bouillant, en fonction du temps, dans une graine mûre de *Dorycnium suffruticosum*.

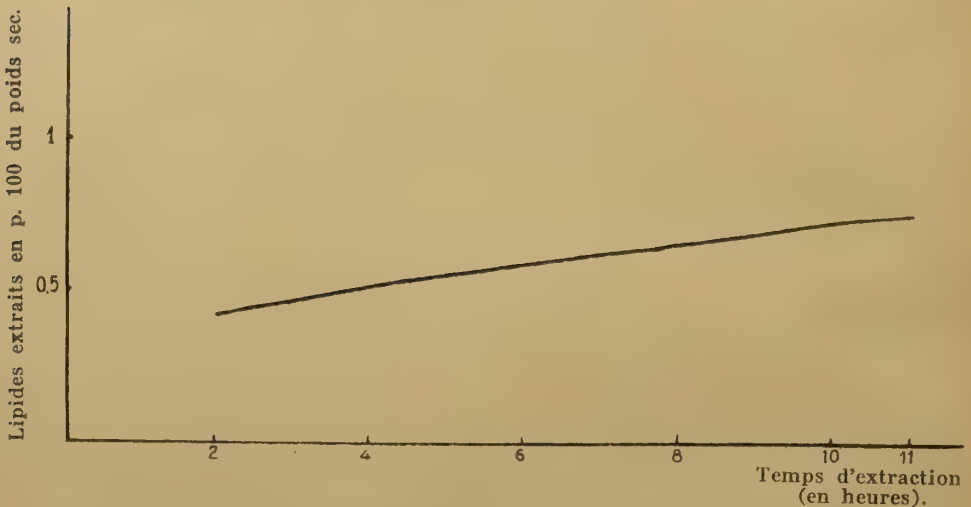
L'alcool bouillant est un excellent agent d'extraction des lipides, mais il ne les dissout pas tous; un second solvant doit compléter l'action de l'alcool, nous avons utilisé comme agent adjuvant : l'éther sulfurique anhydre.

Nous avons déterminé le temps d'extraction nécessaire pour terminer l'extraction lipidique après l'action de l'alcool bouillant durant sept heures; nous avons contrôlé la fin de l'extraction en utilisant un troisième solvant : le benzène; ce dernier n'a pas laissé de résidu lipidique important.

Le tableau suivant consigne les résultats pour les graines de *Dorycnium suffruticosum* :

Temps d'extraction à l'éther sulfurique anhydre (en heures)	Lipides extraits du résidu de la prise d'essai de 0,804 g., après extraction à l'alcool bouillant. (en g.)
2	0,0034
6	0,0047
8	0,0053
10	0,0059
11	0,0060

Etablissons la courbe d'extraction :



Courbe d'extraction totale des lipides à l'aide de l'éther sulfurique, en fonction du temps, dans une graine mûre de *Dorycnium suffruticosum*.

Lipides extraits :

1° avec l'alcool	0,070
2° avec l'éther	0,006

Total 0,076

La teneur en lipides de la graine de *Dorycnium suffruticosum* s'élève à 9,45 p. 100 du poids sec.

Le dosage des lipides des trois graines étudiées sera effectué avec la technique suivante :

- 1° Alcool absolu bouillant : sept heures;
- 2° Ether sulfurique anhydre : huit heures.

ÉVOLUTION DES LIPIDES PENDANT LA MATURATION DES GRAINES

Les résultats obtenus sont réunis dans les tableaux suivants :

1° *Cercis siliquastrum* :

Date de la cueillette	Poids frais de 100 graines (en g.)	Poids de lipides (en g.)
2 juillet	2,108	0,011
10 —	2,206	0,018
20 —	2,604	0,090
31 —	1,981	0,170
8 août	1,792	0,175
Graine mûre	1,791	0,221

2° *Dorycnium suffruticosum* :

Date de la cueillette	Poids frais de 100 graines (en g.)	Poids de lipides (en g.)
9 juillet	0,510	0,004
18 —	0,450	0,008
30 —	0,425	0,010
5 août	0,262	0,018
Graine mûre (8-10 août).	0,260	0,019

3° *Cytisus alpinus* :

Date de la cueillette	Poids frais de 100 graines (en g.)	Poids de lipides (en g.)
10 juin	3,75	0,099
25 —	4,25	0,180
6 juillet	4,50	0,346
15 —	3,82	0,390
Graine mûre (20 juillet).	2,65	0,490

Nous assistons, pendant la formation de ces graines, à l'apparition des lipides; cette lipogenèse présente quelques différences lorsque nous comparons les maturations de ces trois graines :

Dans les très jeunes embryons de *Cercis siliquastrum*, il se forme très peu d'huile, il faut attendre le début de la déshydratation finale pour voir les graines devenir de plus en plus

riches en huile; ainsi, la graine mûre contient 12,4 p. 100 d'huile, tandis que la graine très jeune en contenait environ vingt fois moins.

Dans les très jeunes graines de *Dorycnium suffruticosum*, la quantité d'huile par rapport à celle que contient la graine mûre est assez élevée; nous notons environ quatre fois moins de lipides que dans la graine mûre qui en contient 7,3 p. 100. De plus, cette lipogenèse est régulière et lente, elle débute dès la formation de la graine et se continue sur le même rythme durant toute la maturation; nous ne constatons pas, pendant la déshydratation, de brusque recrudescence dans la lipogenèse.

Une évolution semblable se retrouve dans les graines de *Cytisus alpinus*; au début de leur formation, elles renferment déjà un taux d'huile à peine cinq fois moins élevé que dans la graine mûre qui en contient 18,4 p. 100. La lipogenèse se fait d'une manière constante et régulière, pendant toute la maturation; elle est à rapprocher de celle décrite par LECLERC DU SABLON dans le *Soja hispida* que nous donnons à titre de comparaison :

Date de la cueillette	Poids de matière sèche (en g.)	Huile (en g.)	Huile p. 100 de matière sèche
30 juillet	1,261	0,162	12,8
4 août	4,063	0,177	16,6
11 —	6,519	1,105	16,9
20 —	5,597	1,017	17,0
29 —	6,337	1,188	18,7

L'étude de la lipogenèse faite par les auteurs, principalement chez les graines oléagineuses, a montré que l'huile se formait surtout en fin de maturation, au moment de la déshydratation des tissus, et qu'elle ne pouvait se former dans des tissus riches en eau; parmi les exemples étudiés, nous constatons que la lipogenèse, chez les graines de *Cercis siliquastrum*, se rapproche de celle décrite dans les graines oléagineuses, mais qu'elle s'en éloigne chez les graines de *Dorycnium suffruticosum* et de *Cytisus alpinus* (où le taux d'huile est assez élevé), par sa remarquable évolution régulièrement constante pendant toute la maturation.

ÉVOLUTION DES LIPIDES PENDANT LA GERMINATION

Nous avons vu, dans l'étude cytologique, que la germination des graines de *Cercis siliquastrum* était très difficile à effectuer; cette graine, en effet, possède un tégument dur et un albumen très cellulosique. Nous avons réussi à les faire germer en employant divers artifices; nous avons pu obtenir une germination régulière, mais qui a été néanmoins très lente.

Les graines de *Dorycnium suffruticosum* et de *Cytisus alpinus* ont germé très régulièrement.

L'opération a été conduite dans l'étuve électrique réglée à 23°, les dosages ont été effectués sur les graines avec leurs téguments, et au bout de un, trois, six, neuf jours de germination.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans les tableaux suivants :

1° *Cercis siliquastrum* :

		Poids sec de 100 graines (en g.)	Poids de lipides (en g.)
Germination	Graines non germées.....	1,616	0,221
	3 jours	1,611	0,182
	6 —	1,590	0,178
	9 —	1,307	0,159

2° *Dorycnium suffruticosum* :

		Poids sec de 100 graines (en g.)	Poids de lipides (en g.)
Germination	Graines non germées.....	0,202	0,019
	1 jour	0,195	0,014
	3 jours	0,184	0,013
	6 —	0,148	0,008

3° *Cytisus alpinus* :

		Poids sec de 100 graines (en g.)	Poids de lipides (en g.)
Germination	Graines non germées.....	2,260	0,490
	3 jours	2,180	0,480
	6 —	2,160	0,278
	9 —	1,650	0,268

L'examen des tableaux ci-dessus nous montre que les trois espèces de graines étudiées sont, en germination, le siège d'une lipolyse tout à fait classique; cette lipolyse est régulière et lente chez les graines de *Cercis siliquastrum*; au neuvième jour, ces dernières renferment encore 72 p. 100 de leur poids primitif d'huile.

Chez les graines de *Dorycnium suffruticosum*, elle est régulière mais plus rapide, puisqu'après six jours de germination elles ne contiennent plus que 42 p. 100 de leur poids primitif d'huile.

Chez le *Cytisus alpinus*, la décroissance du taux de lipides est très lente jusqu'au troisième jour, puis très rapide entre le troisième et le sixième; en effet, le taux diminue presque de moitié à ce moment; elle redevient ensuite très lente entre le sixième et le neuvième jour; cette lenteur est peut-être due au fait que la photosynthèse est en pleine activité dans les cotylédons très verts où une légère lipogenèse doit contre-balancer la lipolyse de germination.

CHAPITRE II

GLUCIDES

Nous avons suivi, pendant la formation des graines et pendant leur germination, l'évolution de l'amidon et des sucres réducteurs initiaux et hydrolysables.

Les trois espèces de graines étudiées sont différentes quant à leur teneur en réserves lipidiques et glucidiques; en effet, les graines de *Cercis siliquastrum* renferment peu d'huile et pas d'amidon; les graines de *Dorycnium suffruticosum*, une quantité assez importante d'amidon et peu d'huile; celles de *Cytisus alpinus*, beaucoup d'huile et pas d'amidon.

En examinant ces trois espèces, nous essaierons de voir si, à un moment donné, il y a tendance à transformation des glucides en lipides ou réciproquement.

ÉVOLUTION DES GLUCIDES PENDANT LA FORMATION DES GRAINES

Les résultats obtenus sont réunis dans les tableaux ci-après (voir p. 134).

D'après ces tableaux, l'évolution du complexe glucidique est assez différente dans les trois espèces de graines étudiées; le taux global des sucres augmente pendant toute la période de maturation, ce qui est normal pour un tissu de réserve en formation. Si, cependant, nous examinons les différents sucres, amidon, sucres réducteurs initiaux, sucres hydrolysables, ils évoluent différemment selon le type de graine.

Dans la graine de *Cytisus alpinus*, dès sa formation, nous notons un taux élevé de sucres réducteurs, une teneur assez

importante en sucres hydrolysables, mais l'absence totale d'amidon; l'amidon apparaît quand la graine est à demi-formée; son taux, peu élevé, se maintient pendant dix jours environ; corrélativement, la teneur en sucres réducteurs

Date de la cueillette	Poids frais de 100 graines (en g.)	Glucides totaux (en g.)	Amidon (en g.)	Sucres réduc- teurs (en g.)	Sucres hydro- lysables (en g.)
1° <i>Cercis siliquastrum</i> :					
2 juillet	2,108	0,110	0	0,062	0,048
10 —	2,206	0,150	0	0,058	0,092
20 —	2,604	0,260	0	0,049	0,211
31 —	1,982	0,310	0	0,019	0,291
8 août	1,790	0,330	0	0,010	0,320
Graine mûre	1,790	0,350	0	0,009	0,341
2° <i>Dorycnium suffruticosum</i> :					
9 juillet	0,510	0,036	0,022	0,009	0,005
18 —	0,450	0,038	0,020	0,009	0,009
30 —	0,425	0,045	0,013	0,008	0,024
5 août	0,262	0,048	0,012	0,003	0,033
Graine mûre	0,260	0,052	0,012	0	0,040
3° <i>Cytisus alpinus</i> :					
10 juin	3,75	0,085	0	0,045	0,040
25 —	4,25	0,120	0,030	0,035	0,045
6 juillet	4,5	0,290	0,028	0,020	0,242
15 —	3,8	0,350	0	0,017	0,333
Graine mûre	2,65	0,361	0	0,016	0,345

baisse, tandis que le taux de sucres hydrolysables augmente. Quand la graine est formée, mais non déshydratée, l'amidon diminue puis disparaît complètement; le taux de sucres réducteurs baisse légèrement pendant la déshydratation, tandis que les sucres hydrolysables augmentent; quand la graine est mûre, elle contient une notable proportion de sucres hydrolysables, une petite quantité de sucres réducteurs, mais ne possède plus d'amidon.

Tout au début de la formation de la graine de *Dorycnium suffruticosum*, l'amidon s'élabore et atteint rapidement une

teneur élevée; les sucres réducteurs y sont assez abondants. A mesure que la maturation avance, la teneur en amidon diminue régulièrement, puis se stabilise avant la déshydratation finale; parallèlement, les sucres réducteurs diminuent et les sucres hydrolysables augmentent. La graine mûre contient une notable proportion d'amidon, de sucres hydrolysables et des traces à peine dosables de sucres réducteurs.

La maturation des graines de *Cercis siliquastrum* se caractérise par l'absence complète d'amidon pendant toute cette période de formation; les sucres réducteurs, très abondants au début, diminuent constamment, tandis que les sucres hydrolysables augmentent; à maturité, les graines contiennent une petite quantité de sucres réducteurs, et l'amidon y fait complètement défaut.

ÉVOLUTION DES GLUCIDES PENDANT LA GERMINATION DES GRAINES

Les résultats obtenus sont réunis dans les tableaux suivants :

	Poids sec de 100 graines (en g.)	Glucides totaux (en g.)	Amidon (en g.)	Sucres réduc- teurs (en g.)	Sucres hydro- lysables (en g.)
1° <i>Cercis siliquastrum</i> :					
Graine mûre	1,616	0,350	0	0,009	0,341
Germination {	3 jours	1,611	0,330	0	0,060
	6 —	1,590	0,290	0	0,079
	9 —	1,307	0,280	0	0,088
2° <i>Dorycnium suffruticosum</i> :					
Graine mûre	0,202	0,052	0,012	0	0,040
Germination {	1 jour	0,195	0,051	0,010	0,038
	3 jours	0,184	0,048	0,013	0,020
	6 —	0,148	0,044	0,021	0,012
3° <i>Cytisus alpinus</i> :					
Graine mûre	2,260	0,361	0	0,016	0,345
Germination {	3 jours	2,180	0,290	0	0,050
	6 —	2,160	0,200	0,060	0,140
	9 —	1,650	0,210	0,070	0,100

Nous assistons, pendant la germination, à l'hydrolyse progressive des réserves glucidiques; leur taux global diminue par suite de leur migration vers la plantule qui se développe.

Les sucres étudiés évoluent différemment dans chaque espèce de graine; dans les graines de *Cercis siliquastrum* qui germent très lentement, le taux des sucres hydrolysables diminue régulièrement, tandis que celui des sucres réducteurs augmente; nous notons l'absence d'amidon pendant toute la période étudiée; cette longue absence est explicable par la lenteur de cette germination; nous avons vu, dans l'étude cytologique, l'apparition de l'amidon après neuf jours, au moment où les cotylédons sont le siège d'une assimilation chlorophyllienne intense.

Les graines germées de *Dorycnium suffruticosum* sont le siège d'une diminution lente du taux des sucres hydrolysables et d'une augmentation progressive du taux des sucres réducteurs; l'évolution de l'amidon y est très caractéristique; dès les premières vingt-quatre heures, nous notons une rapide diminution de son taux qui augmente ensuite jusqu'au troisième jour, pour se stabiliser par la suite; cette augmentation est en rapport avec la photosynthèse qui joue précocement un rôle actif dans les cotylédons devenus rapidement verts.

Dans les graines de *Cytisus alpinus*, les sucres réducteurs et hydrolysables évoluent de la même manière; l'amidon, qui fait totalement défaut dans les graines mûres, n'apparaît qu'après six jours de germination, au moment où la photosynthèse est en pleine activité dans le tissu cotylédonaire.

CHAPITRE III

MATIÈRES ORGANIQUES AZOTÉES

L'aleurone constitue dans les graines la matière protéique de réserve; l'étude cytologique nous a permis de suivre sa formation pendant la maturation, et son évolution pendant la germination.

Nous en avons fait l'étude chimique en dosant l'azote soluble, l'azote protéique et l'azote total; les rapports azote soluble/azote total ou azote protéique/azote total nous permettront de suivre la formation des matières protéiques dans les jeunes graines, et leur hydrolyse pendant la germination.

ÉVOLUTION DES MATIÈRES ORGANIQUES AZOTÉES PENDANT LA MATURATION DES GRAINES

Les résultats obtenus sont réunis dans les tableaux de la page 138.

De l'examen de ces tableaux, il ressort que, pendant la maturation, le taux d'azote total augmente dans les graines, c'est un fait déjà connu; cette augmentation est régulière et n'est pas sujette à de brusques variations, elle se ralentit seulement au moment de la déshydratation finale. Le rapport azote soluble/azote total baisse par suite de la diminution des matières organiques azotées solubles qui se condensent pour donner naissance à des molécules protéiques; la variation de ce rapport nous permet ainsi de suivre la formation des protides dans les graines.

Dans la graine de *Cercis siliquastrum*, nous constatons une diminution régulière du rapport, donc une formation régulière des matières protéiques; le rapport diminue brusque-

ment dans la graine de *Dorycnium suffruticosum*, presque en fin de maturité, et tout au début de la maturation dans la graine de *Cytisus alpinus*; le brusque abaissement du rapport azote soluble/azote total indique une rapide protéosynthèse dans la graine; nous verrons par la suite que cette brusque variation correspond, d'après l'étude cytologique, à l'apparition dans les vacuoles de l'embryon de précipités naturels ou provoqués par le rouge neutre.

Date de la cueillette	Poids frais de 100 graines (en g.)	Azote total	Rapport azote soluble/azote total
1° <i>Cercis siliquastrum</i> :			
2 juillet	2,108	0,032	0,44
10 —	2,206	0,039	0,32
20 —	2,604	0,044	0,25
31 —	1,982	0,052	0,16
8 août	1,790	0,053	0,14
Graine mûre	1,790	0,055	»
2° <i>Dorycnium suffruticosum</i> :			
9 juillet	0,510	0,006	0,60
18 —	0,450	0,009	0,50
30 —	0,425	0,010	0,40
5 août	0,262	0,012	0,09
Graine mûre	0,260	0,012	»
3° <i>Cytisus alpinus</i> :			
10 juin	3,75	0,120	0,35
25 —	4,25	0,128	0,18
6 juillet	4,50	0,130	0,15
15 —	3,80	0,157	0,09
Graine mûre	2,65	0,160	»

ÉVOLUTION DES MATIÈRES ORGANIQUES AZOTÉES PENDANT LA GERMINATION DES GRAINES

Les résultats sont réunis dans les tableaux suivants (voir p. 139).

Les matières organiques azotées dans les graines en germination étudiées suivent une évolution normale; nous assistons

à une diminution progressive et régulière du taux d'azote total; le rapport azote soluble/azote total augmente par suite de l'hydrolyse des matières protéiques et de l'apparition de matières azotées solubles; cette variation du rapport n'est pas

	Poids frais de 100 graines (en g.)	Azote total	Rapport azote soluble/azote total
1° <i>Cercis siliquastrum</i> :			
Graines non germées.	1,616	0,055	»
Germination { 3 jours	1,611	0,053	0,15
{ 6 —	1,590	0,047	0,17
{ 9 —	1,307	0,020	0,46
2° <i>Dorycnium suffruticosum</i> :			
Graines non germées.	0,202	0,012	»
Germination { 1 jour	0,195	0,012	0,080
{ 3 jours	0,184	0,011	0,088
{ 6 —	0,148	0,005	0,139
3° <i>Cytisus alpinus</i> :			
Graines non germées.	2,260	0,16	»
Germination { 3 jours	2,180	0,15	0,13
{ 6 —	2,160	0,14	0,14
{ 9 —	1,650	0,08	0,41

régulière et subit une brusque élévation à un moment donné; ce moment se situe entre le sixième et le neuvième jour de germination chez le *Cytisus alpinus* et le *Cercis siliquastrum*; entre le troisième et le sixième jour chez le *Dorycnium suffruticosum*.

Nous verrons, lors de la comparaison des résultats obtenus grâce aux études cytologiques, que cette brusque élévation correspond à la disparition des précipités naturels ou provoqués par le rouge neutre dans le Vacuome.

TROISIÈME PARTIE

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Dans le travail que nous venons d'achever, nous nous sommes efforcé d'étudier, du point de vue cytologique, certaines graines de Légumineuses qui n'avaient pas encore fait l'objet de recherches; c'est ainsi que nous avons passé en revue : le vacuome, le plastidome, le chondriome et l'huile, en nous attachant à suivre leur formation et leur devenir pendant la germination. Dans ce nouveau champ d'expériences, nous avons pu confirmer les résultats obtenus par P. DANGEARD au cours de ses recherches sur les Lupins, le Soja, le Pois, la Fève et le Haricot.

Nous avons aussi envisagé le problème du point de vue chimique; nous avons dosé dans ces mêmes graines, les matières organiques azotées, les glucides et les lipides.

Ces deux études, cytologique et chimique, ne sont pas indépendantes; nous verrons, au contraire, que certains problèmes posés par l'une peuvent être élucidés ou vérifiés par l'autre; certains constituants cellulaires peuvent, en effet, être étudiés par les méthodes cytologiques, d'autres par les méthodes chimiques, certains, enfin, par toutes ces méthodes réunies. Nous allons examiner successivement les conclusions que nous avons pu tirer de l'ensemble de notre étude sur chacun de ces constituants.

ALEURONE

L'étude vitale avec ou sans colorant, confirmée par l'étude au moyen de fixations suivies de coloration, nous a montré que l'aleurone constituait dans les graines un état particulier du vacuome. Sa formation a bien pour siège les grandes vacuoles des jeunes embryons; celles-ci, au fur et à mesure

que la maturation avance, accumulent des matières protéiques et perdent leur eau au moment de la déshydratation terminale. L'aspect morphologique des vacuoles en évolution est fonction, dans chaque cellule :

1° De leur situation dans la graine;

2° De l'état plus ou moins abondant des constituants cellulaires voisins;

3° De la formation plus ou moins rapide des matières protéiques qui s'y accumulent, ainsi que de leur stabilité.

En fin de maturation, les grains d'aleurone représentent les vacuoles desséchées des graines.

Lors de la germination, les graines absorbent beaucoup d'eau et voient leurs réserves s'hydrolyser en vue de la croissance de la jeune plantule; autrement dit, les phénomènes de la germination sont inverses de ceux de la maturation; les grains d'aleurone augmentent de volume par imbibition; leur matière protéique s'hydrolyse et leur fusion s'accomplit plus ou moins rapidement. L'aspect morphologique de cette évolution est fonction, dans chaque cellule, de la situation de l'aleurone dans la graine, de l'état des constituants cellulaires voisins, de l'hydrolyse plus ou moins rapide des matières protéiques ainsi que de leur stabilité.

Tous ces facteurs agissent plus ou moins différemment dans chaque espèce de graine. Tout d'abord, l'aleurone se forme plus rapidement dans les cellules épidermiques que dans les cellules profondes; l'épiderme, étant le tissu le plus en contact avec l'atmosphère, perd plus rapidement son eau, et la matière protéique se dépose d'emblée dans les vacuoles. Ces dernières sont, en effet, très rarement le siège de précipitations pendant la maturation.

Dans les cellules profondes, la formation de l'aleurone est plus ou moins rapide selon la graine envisagée; la matière protéique qui le constitue précipite, à un moment déterminé, soit naturellement, soit sous l'action d'un agent extérieur, tel que colorant vital ou fixateur.

Ces précipitations sont très précoces et très importantes chez le *Cytisus alpinus* et chez le *Soja hispida*, un peu moins chez le *Cercis siliquastrum*; elles existent assez rarement chez l'*Acacia dealbata* et l'*Albizzia Julibrissin*, ainsi que chez le

Dorycnium suffruticosum; elles se forment ainsi à des époques déterminées pour chaque espèce de graine et représentent le début d'une protéosynthèse active. En effet, l'analyse chimique nous a montré que si le taux d'azote total augmente régulièrement durant la maturation, le rapport azote soluble/azote total baisse, mais subit une brusque diminution à un certain moment : ce moment se situe au début de la maturation de *Cytisus alpinus*, et en fin de maturation chez *Dorycnium suffruticosum*.

Chez le *Cercis siliquastrum*, le rapport baisse régulièrement pendant toute la maturation.

Or, cette baisse coïncide avec l'apparition précoce des précipités naturels chez le *Cytisus alpinus*, et avec la formation d'emblée de l'aleurone en fin de maturation chez le *Dorycnium suffruticosum*; chez le *Cercis siliquastrum*, la précipitation est peu intense et ne donne pas lieu à une baisse brusque du rapport.

Les précipitations vacuolaires représentent bien la matière protéique de réserve en voie de formation; elles correspondent à un début de protéosynthèse active, et nous pouvons donc les considérer comme le test du début de la formation de l'aleurone.

Le tableau suivant résume les résultats concernant la formation de l'aleurone :

Formation de l'aleurone	Très précoce	Précoce	Assez précoce	Tardive	Très tardive
Graines	<i>Cytisus alpinus</i>	<i>Soja hispida</i>	<i>Cercis siliquastrum</i>	<i>Acacia dealbata</i> <i>Albizzia</i> <i>Julibrissin</i>	<i>Dorycnium suffruticosum</i>

La division des vacuoles ne joue qu'un rôle secondaire puisqu'elle est en partie fonction de l'abondance des constituants cellulaires qui avoisinent le vacuome.

Si nous comparons ces résultats avec ceux que P. DANGEARD a obtenus en étudiant diverses graines de Légumineuses, nous pouvons, quant à la formation de l'aleurone, rapprocher le *Cytisus alpinus* et le *Soja hispida* des Lupins, le *Cercis sili-*

quastrum du Pois, l'*Acacia dealbata*, l'*Albizzia Julibrissin* et le *Dorycnium suffruticosum* de la Fève et du Haricot.

Quand les précipitations sont très abondantes, il est possible d'en voir certaines se situer dans le protoplasme; il ne faut cependant pas leur attribuer une origine protoplasmique, car cette migration est provoquée par la rupture de l'équilibre osmotique des vacuoles sous l'action d'un agent extérieur tel que colorant vital ou fixateur; d'autre part, lors de la division vacuolaire, certaines petites vacuoles qui s'isolent peuvent être entièrement occupées par ces précipités que l'on peut croire ainsi issus du protoplasme.

Contrairement à l'opinion de WIELER, nous pouvons donc, avec P. DANGEARD, affirmer que l'aleurone a bien une origine vacuolaire.

Lors de la germination, nous avons suivi la transformation des grains d'aleurone en vacuoles. Cette évolution nous prouve que l'aleurone fait bien partie du système vacuolaire. L'étude chimique nous a montré que le taux d'azote total diminuait pendant toute la germination, par suite du départ vers la radicule des matières protéiques hydrolysées, et que l'azote protéique diminuait tandis que l'azote soluble augmentait lentement. Quand, dans les cellules profondes, le stade univacuolaire est atteint, vers le neuvième jour dans le *Cytisus alpinus* et le *Cercis siliquastrum*, et vers le sixième jour dans le *Dorycnium suffruticosum*, on note une augmentation nette du rapport azote soluble/azote total qui correspond à la fin de l'hydrolyse des protides de réserve; nous avons, d'autre part, constaté, dans l'étude cytologique, que les précipités vacuolaires, préformés dans le *Cytisus alpinus*, provoqués dans le *Cercis siliquastrum* et le *Dorycnium suffruticosum*, disparaissaient complètement à ce même moment; ces précipités constituent bien les dernières substances protéiques de réserve en voie d'hydrolyse; ainsi, la brusque augmentation du rapport azote soluble/azote total pendant la germination marque la disparition totale de la matière aleurique de réserve.

STRUCTURE DES GRAINS D'ALEURONE

L'étude de l'aleurone dans les graines mûres nous a montré qu'il a partout une structure homogène; toutefois, dans la

graine de *Cercis siliquastrum*, chaque cellule épidermique cotylédonaire possède un grain d'aleurone contenant un ou deux cristaux d'oxalate de calcium; ceci ne doit pas constituer une exception, car ces substances minérales sont ici des produits de déchets.

L'aspect finement ponctué de l'aleurone du *Dorycnium suffruticosum* observé vitalement (et non conservé en coloration vitale) ne doit pas être considéré comme une véritable structure ponctué; il est dû à un mode de déshydratation particulier, la matière protéique constituant l'aleurone restant toujours homogène. De même, les aspects alvéolaires et granuleux observés dans des graines non mûres et germées ne correspondent pas à des structures hétérogènes; elles sont dues à une déshydratation ou à une hydratation plus ou moins rapide des diverses parties de la matière aleurique.

Nous avons quelquefois retrouvé cet aspect ponctué de l'aleurone dans des coupes fixées et colorées par l'hématoxyline, mais seulement après une différenciation dans l'alun de fer ammoniacal très poussée; cet aspect, comme en observation vitale, ne correspond pas à une structure hétérogène. De plus, il n'est pas constant dans toutes les cellules, ni dans les grains d'aleurone d'une même cellule.

Contrairement à l'opinion de WIELER émise à ce sujet, et en accord avec celle de P. DANGEARD, les grains d'aleurone des graines de Légumineuses ont bien une structure homogène.

CHONDRIOME

Dans les graines de Légumineuses que nous avons étudiées, le chondriome s'est révélé, dans son ensemble, très homogène. Nous l'avons trouvé partout sous forme de mitochondries granuleuses, très abondantes chez l'*Albizzia Julibrissin*, et aussi sous forme d'éléments rectilignes assez courts chez le *Dorycnium suffruticosum*, légèrement flexueux chez le *Cytisus alpinus*, le *Cercis siliquastrum* et les deux graines de *Mimosées*, assez allongés et ondulés chez le *Soja hispida*.

Ces éléments, dans chaque graine, se retrouvent toujours identiques à eux-mêmes, quel que soit le stade de maturation ou de germination où on les observe; ils ne verdissent pas et

ils n'accumulent pas d'amidon; nous n'avons jamais décelé de formes de passage avec les plastes; les formes allongées montrent parfois, à leur extrémité, un petit renflement. Cet aspect, d'après nous, correspond à des mitochondries en voie de cavulation.

Le chondriome, dans les graines de Légumineuses, semble être à un état stationnaire; formé d'éléments qui n'évoluent pas, il peut être considéré comme faisant partie du paraplasme.

PLASTIDOME

A l'inverse du chondriome, le plastidome s'est montré dans les graines en formation et en germination, en évolution constante.

Au début, tous les jeunes embryons contiennent de petits leucoplastes qui, ensuite, verdissent et accumulent de l'amidon. Cet amidon apparaît plus ou moins tôt, selon l'espèce de graine. Il est très précoce et très abondant chez le *Dorycnium suffruticosum*, un peu moins chez le *Soja hispida*, l'*Acacia dealbata* et l'*Albizzia Julibrissin*; chez le *Cytisus alpinus* et le *Cercis siliquastrum*, il apparaît plus tardivement et en très petites quantités. Les grains d'amidon formés sont simples, sauf chez le *Soja hispida* et le *Dorycnium suffruticosum*; les épidermes cotylédonairens en sont pour la plupart pourvus. La petite quantité d'amidon formée chez le *Cercis siliquastrum* et le *Cytisus alpinus* est très fugace; elle est rapidement résorbée en fin de maturation, et les graines mûres n'en contiennent plus; quant aux autres graines, une légère résorption s'amorce assez tôt chez le *Dorycnium suffruticosum*, très tardivement chez le *Soja hispida* et les graines de *Mimosées*, elle se localise surtout dans les cellules épidermiques et sous-épidermiques; toutefois, elle n'est jamais importante, puisque les graines mûres en contiennent encore en notable quantité; la chlorophylle disparaît dans les graines au moment du dessèchement, sauf dans celles d'*Albizzia Julibrissin* qui en contiennent encore un peu.

Dans les graines presque mûres de *Cytisus alpinus* et de *Dorycnium suffruticosum*, nous avons observé des formes atypiques de plastes, d'« aspect mitochondrial », tout à fait

différents des mitochondries qui les accompagnent; ce sont tout simplement des amyloplastes en dégénérescence, par suite de la résorption de l'amidon qu'ils contiennent.

Quand les graines sont mûres, les grains d'amidon sont entourés d'un fin *stroma* plastidial continu chez le *Dorycnium suffruticosum* et le *Soja hispida*, semblant quelquefois discontinu chez l'*Albizzia Julibrissin* ou même inexistant chez l'*Acacia dealbata*; ce *stroma* est incolore, sauf chez l'*Albizzia Julibrissin*, où il est d'une teinte vert pâle. A côté de ces amyloplastes, nous avons observé de petits leucoplastes accompagnés, chez l'*Albizzia Julibrissin*, de petits chloroplastes; le plastidome est uniquement formé de petits leucoplastes chez le *Cercis siliquastrum* et le *Cytisus alpinus*.

Lors de la germination, les grains d'amidon s'hydrolysent plus ou moins rapidement selon l'espèce de graine; en même temps, mais quelquefois très tardivement, comme c'est le cas du *Cercis siliquastrum* et du *Cytisus alpinus*, apparaissent, dans le cytoplasme des cellules, de petits grains d'amidon qui s'élaborent au niveau des petits plastes que contenait la graine mûre, et que l'on a pu bien mettre en évidence dans des graines germées de quelques heures. Ces plastes grossissent et accumulent de nombreux grains d'amidon; leur verdissement devenu très intense indique que les cotylédons sont le siège d'une active photosynthèse; le verdissement des cotylédons est donc dû aux petits plastes, restés inactifs dans la graine desséchée et qui, lors de la germination, ont élaboré de l'amidon, grâce à l'activité chlorophyllienne dont ils étaient le siège.

AMIDON — AMYLOGENÈSE — AMYLOLYSE

Dans toutes les graines étudiées, nous avons saisi, au cours de l'amylogenèse ou de l'amylolyse, à l'aide du réactif iodo-ioduré, des colorations brun acajou au niveau des plastes.

REILHES pense que l'amidon peut se colorer en bleu, puis en violet, puis en rouge, à mesure que la teneur en iode des réactifs iodés augmente.

D'après nous, les colorations que nous avons obtenues représentent des stades intermédiaires de polymérisation entre l'amidon et les sucres solubles, du type dextrine et en parti-

culier érythrodextrine; nous avons en effet fait varier la concentration des solutions d'iode, et nous les avons toujours obtenues, même avec des solutions très diluées. De plus, dans la même cellule, les colorations brun acajou voisinent avec des colorations bleues caractéristiques de l'amidon; les colorations obtenues ne dépendent donc pas du réactif utilisé.

Ces formations d'érythrodextrine sont très fugaces; il faut, pour bien les observer, suivre dans ses moindres détails la formation ou la disparition de l'amidon. Lors de l'amylogénèse, les grains qui se colorent en brun acajou sont petits, ils ont, soit un aspect homogène, soit un aspect granuleux dû au fait que certains points du grain se colorent plus ou moins intensément; quand les grains d'amidon s'hydrolysent, la coloration brun acajou peut être observée dans des plastes de différentes dimensions; elle a un aspect homogène ou granuleux; quelquefois même, le grain d'amidon est entouré d'une auréole brun acajou correspondant à une zone d'hydrolyse.

Nous pouvons admettre que ces dextrines représentent un stade intermédiaire entre l'amidon et les sucres solubles, et que l'amidon ne se forme pas d'emblée dans les plastes à partir de la solution des sucres solubles.

Enfin, nous avons quelquefois aperçu, dans de futurs amyloplastés, une petite inclusion ronde qui reste incolore après l'action du réactif iodo-ioduré; P. DANGEARD l'avait déjà observée dans des cas analogues; nous pensons que cette inclusion, très fugace, est formée d'une solution très concentrée de sucres solubles en voie de polymérisation.

RAPPORTS DE L'HUILE ET DES SUCRES

L'étude cytologique, confirmée par l'étude chimique, nous a montré que l'huile se forme régulièrement pendant la maturation dans les graines de *Dorycnium suffruticosum* et *Cytisus alpinus*; il en est de même dans les graines de *Soja hispida*, *Acacia dealbata* et *Albizzia Julibrissin*; les graines de *Cercis siliquastrum* ont toutefois une lipogénèse tardive puisqu'elle a surtout lieu en fin de maturation.

D'autre part, nous avons vu que l'amylogénèse se produisait plus ou moins tôt et était plus ou moins importante selon

l'espèce envisagée; très précoce et abondante dans le *Dorycnium suffruticosum*, précoce dans l'*Albizzia Julibrissin*, l'*Acacia dealbata* et le *Soja hispida*, elle est tardive et presque inexistante dans le *Cercis siliquastrum* et le *Cytisus alpinus*.

Cette amylogenèse est généralement suivie par une légère amylolyse, assez précoce dans le *Dorycnium suffruticosum*, très tardive dans le *Soja hispida* et les *Mimosées*, presque inexistante dans le *Cercis siliquastrum* et le *Cytisus alpinus*.

Nous voyons que, à part le *Dorycnium suffruticosum*, où l'amylolyse a lieu en même temps que la lipogenèse, il n'est pas possible d'envisager la dérivation de l'huile à partir de l'amidon, comme le font les auteurs pour les graines oléagineuses; l'huile, ici, se forme dès le début de la maturation et très régulièrement; seulement, dans le *Cercis siliquastrum*, elle apparaît plutôt tardivement, mais la quantité d'amidon qui disparaît en même temps est trop minime pour être responsable de cette intense lipogenèse.

Ces deux éléments de réserve : huile et amidon ont donc une évolution tout à fait indépendante l'une de l'autre pendant la maturation.

Lors de la germination, les graines sont le siège d'une lipolyse régulière, plus ou moins lente selon l'espèce considérée; elle tend à diminuer au moment où la photosynthèse entre en jeu dans les cotylédons. Corrélativement, l'amidon de réserve, si la graine en contient, s'hydrolyse plus ou moins lentement puis, à un certain moment, la quantité d'amidon augmente; cette augmentation ne correspond pas à une lipolyse rapide et elle ne peut pas provenir d'une transformation de l'huile en sucres; elle coïncide avec le verdissement des cotylédons qui fonctionnent comme feuilles assimilatrices. Cet amidon apparaissant à la germination est donc une formation nettement indépendante de tout autre transformation chimique, et elle est, dans ces graines, le résultat de l'assimilation chlorophyllienne.

Les résultats obtenus par la plupart des auteurs ont montré que, dans les graines oléagineuses, l'huile se formait pendant la maturation, aux dépens des sucres, et que le phénomène inverse avait lieu pendant la germination; cette théorie a été souvent étendue à d'autres graines. D'après nous, il ne faut pas la généraliser. Les graines oléagineuses possèdent en effet

un métabolisme particulier, car l'accumulation des lipides dont elles sont le siège se fait tardivement pendant la maturation, et peut être due à une transformation des sucres en huile. Nous avons vu qu'il en était autrement dans les graines que nous venons d'étudier, puisque l'huile et les sucres évoluent toujours séparément, aussi bien pendant la maturation que pendant la germination.

PLANCHES

LÉGENDES

ac : amylochloroplaste.
al : aleurone.
am : amidon.
chr : chondriosome.
chl : chloroplaste.
m : mitochondrie.
lip : gouttelette lipidique.
pr vac : précipité vacuolaire.
n : noyau.
v : vacuole.
oxc : oxalate de calcium.

Cytisus alpinus : pl. I, II.
Dorycnium suffruticosum : pl. III, IV, V.
Soja hispida : pl. VI, VII.
Cercis siliquastrum : pl. VIII, IX.
Acacia dealbata : pl. X, XI.
Acacia Julibrissin : pl. XII, XIII.

NOTA. — Les figures ont été dessinées à l'aide d'un oculaire compensateur 9 et d'un objectif à immersion 1/12 de STASSNIE.

La chambre claire de NACHET nous a servi à reproduire le contour des cellules ainsi que les principaux éléments cellulaires. Les autres constituants ont été dessinés directement dans ce cadre avec le plus d'exactitude possible, quant à leur place et leur forme.

Les figures ont été réduites d'un tiers pour l'impression.

PLANCHE I

CYTISUS ALPINUS

- Fig. a. — Cellule parenchymateuse de très jeune embryon (observation vitale), vacuole homogène. Plastidome abondant composé de petits et moyens chloroplastes ($\times 1.600$).
- Fig. b. — Même cellule à un stade plus avancé (observation vitale), la vacuole se remplit de précipitations ($\times 1.600$).
- Fig. c. — Même cellule à un stade très avancé de maturation (coloration vitale au rouge neutre), l'unique vacuole prend un aspect tourmenté. Les précipités naturels y sont très nets ($\times 1.600$).
- Fig. d. — Cellule parenchymateuse (coloration vitale au rouge neutre), le vacuome est formé par quatre vacuoles ($\times 1.600$).
- Fig. e. — Deux cellules épidermiques, même stade (coloration vitale au rouge neutre), présence dans les vacuoles de très petits précipités colorés en rouge vif par le colorant vital ($\times 1.600$).
- Fig. f, g. — Deux cellules parenchymateuses de graine presque mûre (observation vitale), vacuome et plastidome seuls figurés.
Différents aspects du vacuome ($\times 1.600$) :
Fig. f : aspects ponctué et alvéolaire.
Fig. g : aspects homogène et hétérogène.
- Fig. h. — Cellule épidermique externe de graine mûre (coloration vitale au rouge neutre) ($\times 1.600$).
- Fig. i. — Cellule parenchymateuse de graine mûre (coloration vitale au rouge neutre). Vacuome, plastidome et lipides figurés ($\times 1.600$).

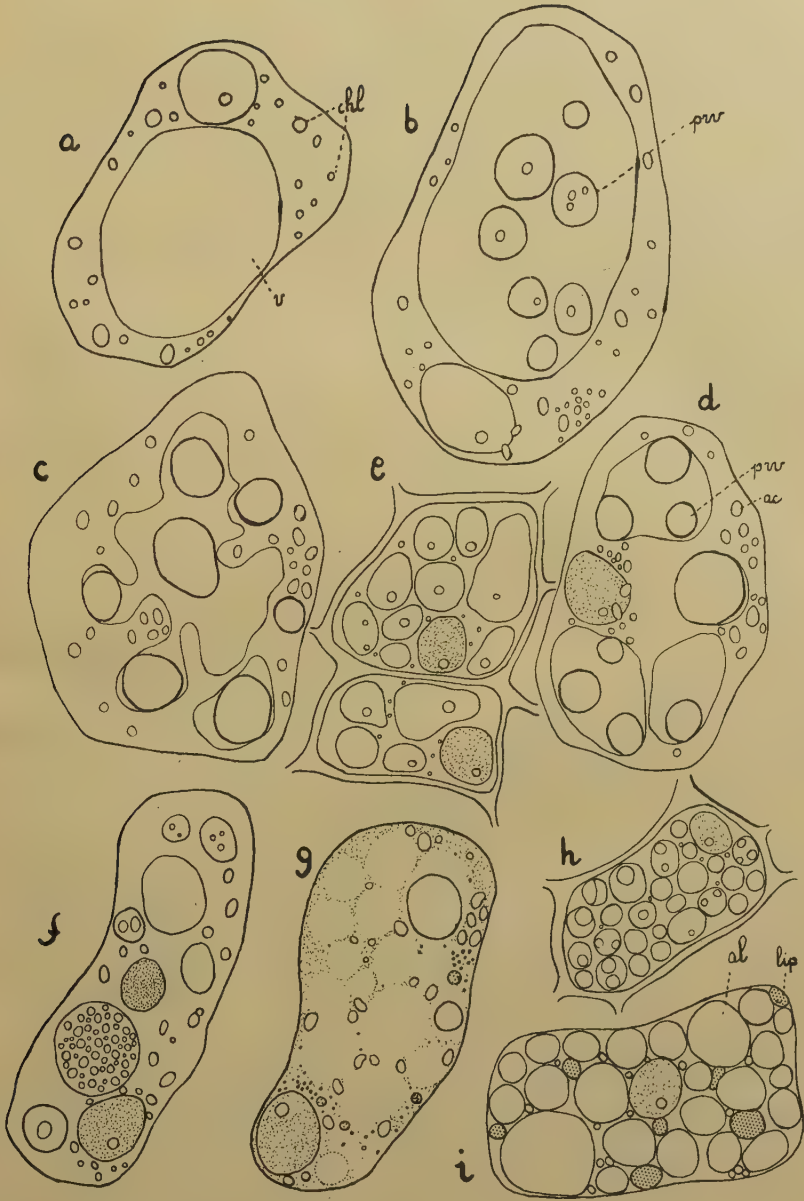


PLANCHE I
Cytisus alpinus.

PLANCHE II

CYTISUS ALPINUS

- Fig. a. — Cellule parenchymateuse de cotylédon après quarante-huit heures de germination (observation vitale suivie d'une coloration au rouge neutre); présence, dans les vacuoles, de précipités naturels colorés par le rouge neutre ($\times 1.600$).
- Fig. b. — Cellule épidermique de cotylédon après sept jours de germination (observation vitale), présence de chloroplastes amyliifères ($\times 1.600$).
- Fig. c. — Cellule du parenchyme palissadique de cotylédon, même stade (coloration vitale au rouge neutre) ($\times 1.600$).
- Fig. c'. — Son plastidome et son chondriome (observation vitale) ($\times 2.700$).
- Fig. d. — Cellule parenchymateuse de très jeune embryon (fixateur de BOUIN). Quelques petits chloroplastes. Précipité vacuolaire chromophile ($\times 1.600$).
- Fig. e. — Même cellule à un stade plus avancé (fixateur de NAWASCHIN). Nombreux chloroplastes, certains amyliifères ($\times 1.600$).
- Fig. f. — Cellule parenchymateuse à un stade très avancé de maturation (méthode de REGAUD sans postchromisation), précipités vacuolaires chromophiles. Plastidome abondant ($\times 1.600$).
- Fig. g. — Cellule parenchymateuse de graine presque mûre (méthode de REGAUD), aleurone très chromophile. Plastidome et chondriome très nets ($\times 1.600$).
- Fig. g'. — Son plastidome et son chondriome : remarquer la forme dégénéréscente des plastes amyliifères en voie de disparition ($\times 3.600$).
- Fig. h. — Cellule parenchymateuse, même stade (fixateur de NAWASCHIN), chondriome non conservé ($\times 1.600$).
- Fig. i. — Cellule parenchymateuse de graine mûre (méthode de REGAUD) ($\times 1.600$).
- Fig. j. — Même cellule après vingt-quatre heures de germination (méthode de REGAUD) ($\times 1.600$).
- Fig. k. — Même cellule après sept jours de germination (méthode de REGAUD) ($\times 1.600$).

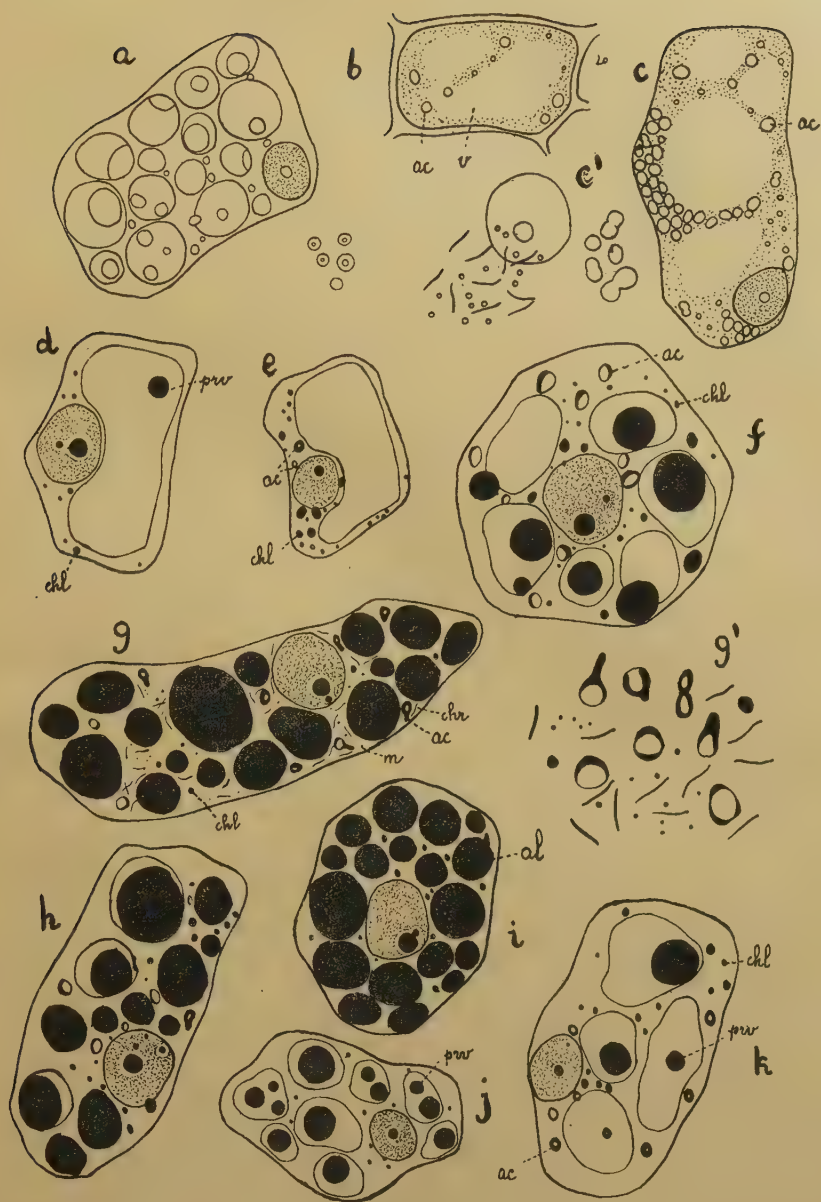


PLANCHE II
Cytisus alpinus,

PLANCHE III

DORYCNIUM SUFFRUTICOSUM

- Fig. a. — Cellule parenchymateuse de très jeune embryon (observation vitale), formation précoce d'amidon dans les chloroplastes ($\times 1.800$).
- Fig. b. — Même cellule dans un embryon plus âgé (observation vitale), l'amidon y est représenté par de gros grains; vacuole encore unique ($\times 1.800$).
- Fig. c, d, e. — Evolution du vacuome et du plastidome dans de jeunes cellules épidermiques (observation vitale) ($\times 1.800$).
- Fig. f. — Cellule sous-épidermique caractérisée par ses gros grains d'amidon; même stade que b (observation vitale) ($\times 1.800$).
- Fig. g. — Cellule épidermique à un stade très avancé de maturation (observation vitale). Les « inclusions claires » des vacuoles y sont représentées ($\times 1.800$).
- Fig. h. — Cellule parenchymateuse, même stade. Même légende ($\times 1.800$).
- Fig. i. — Même stade. Cellule montrant des vacuoles aleuriques d'aspect ponctué et d'aspect alvéolaire (observation vitale).
- Fig. j, k. — Deux cellules parenchymateuses de graines mûres (observation vitale). Vacuome, plastidome et lipides figurés ($\times 1.800$).
- Fig. k'. — Trois grains d'amidon de graine mûre ($\times 3.600$).
- Fig. l. — Cellule épidermique de cotylédons de graine mûre (observation vitale) ($\times 1.800$).

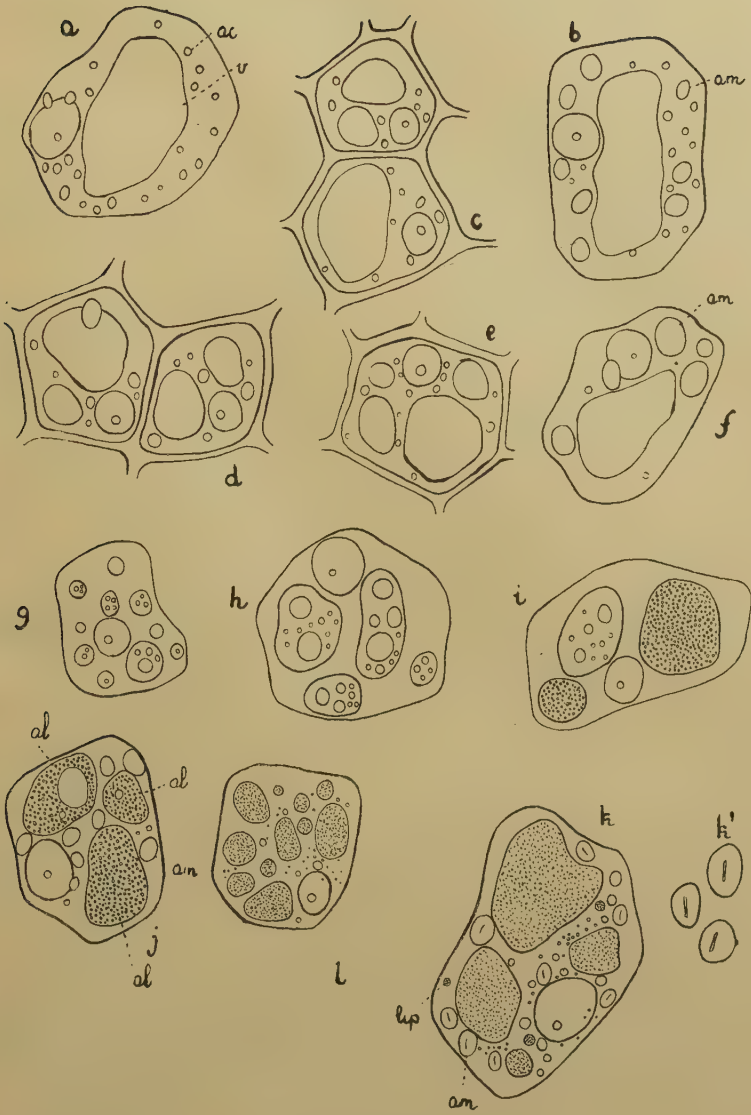


PLANCHE III

Dorycnium suffruticosum.

PLANCHE IV

DORYCNium SUFFRUTICOSUM

Fig. a. — Cellule parenchymateuse de cotylédon de graine mûre (coloration vitale au rouge neutre); l'aspect ponctué n'est pas conservé ($\times 1.800$).

Fig. b. — Cellule parenchymateuse après trente-six heures de germination (réactif iodo-ioduré), l'amidon y est peu représenté, quelques petits chloroplastes ($\times 1.800$).

Fig. c. — Cellule parenchymateuse après deux jours de germination (coloration vitale au rouge neutre), précipité vacuolaire, chloroplastes, rares amylofères ($\times 1.800$).

Fig. d. — Même cellule après quatre jours de germination (coloration vitale au rouge neutre). Nombreux chloroplastes contenant de petits grains d'amidon simples ou composés ($\times 1.800$).

Fig. d'. — Chloro-amyloplastcs au même stade ($\times 3.600$).

Fig. e. — Cellule parenchymateuse après une germination très avancée (coloration vitale); vacuome et plastidome seuls figurés ($\times 1.800$).

Fig. e'. — Chloro-amyloplastcs au même stade ($\times 3.600$).

Fig. f. — Cellule épidermique de cotylédon au même stade (réactif iodo-ioduré) ($\times 1.800$).

Fig. f'. — Son plastidome (réactif iodo-ioduré) ($\times 3.600$).

Fig. g, h. — Deux cellules stomatiques à des stades successifs de germination (observation vitale), plastidome seul figuré. Dans la fig. h, remarquer la disposition des plastcs ($\times 1.800$).

Fig. i. — Cellule parenchymateuse de jeune embryon (méthode de REGAUD), vacuome seul figuré ($\times 1.800$).

Fig. j, k. — Cellule parenchymateuse de jeune embryon (fixateur de BOUIN) ($\times 1.800$); vacuome seul figuré, différents aspects des précipités vacuolaires.

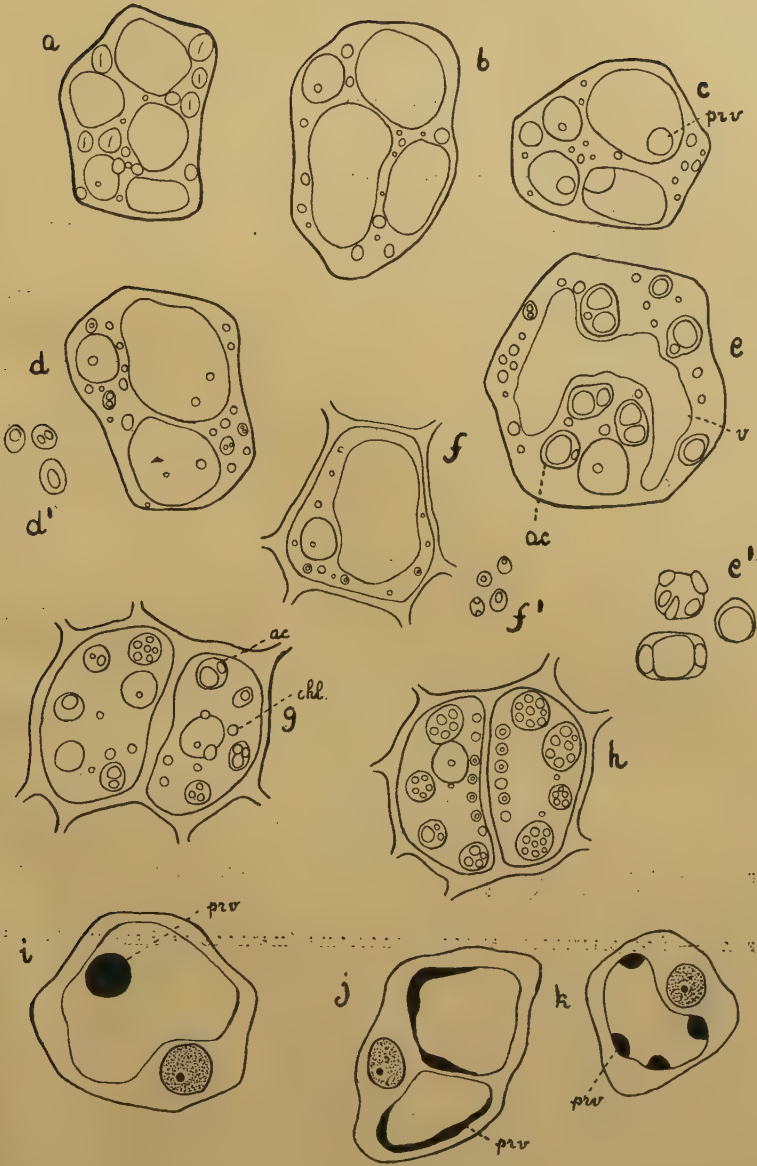


PLANCHE IV
Dorycnium suffruticosum.

PLANCHE V

DORYCNIUM SUFFRUTICOSUM

- Fig. a. — Cellule parenchymateuse de cotylédon d'une très jeune graine (méthode de REGAUD) ($\times 1.800$).
- Fig. a'. — Son plastidome et son chondriome (méthode de REGAUD) ($\times 3.600$).
- Fig. b. — Même cellule à un stade plus avancé (méthode de REGAUD) ($\times 1.800$).
- Fig. b'. — Son plastidome et son chondriome (méthode de REGAUD) ($\times 3.600$).
- Fig. c. — Cellule parenchymateuse de cotylédon presque mûr (méthode de REGAUD); aleurone, plastidome et chondriome figurés ($\times 1.800$).
- Fig. d. — Cellule épidermique de cotylédon mûr (méthode de REGAUD) ($\times 1.800$).
- Fig. e. — Cellule parenchymateuse, même stade (méthode de REGAUD) ($\times 1.800$).
- Fig. f. — Même cellule (méthode de REGAUD); la régression assez poussée dans l'alun de fer met en évidence l'aspect ponctué des grains d'aleurone ($\times 1.800$).
- Fig. g. — Cellule parenchymateuse après trente-six heures de germination (fixateur de BOUIN); débris, dans le cytoplasme, d'enveloppes plastidiales des grains d'amidon hydrolysés ($\times 1.800$).
- Fig. h. — Même cellule après cinq jours de germination (méthode de REGAUD) ($\times 1.800$).
- Fig. h'. — Son plastidome et son chondriome (méthode de REGAUD) ($\times 3.600$).

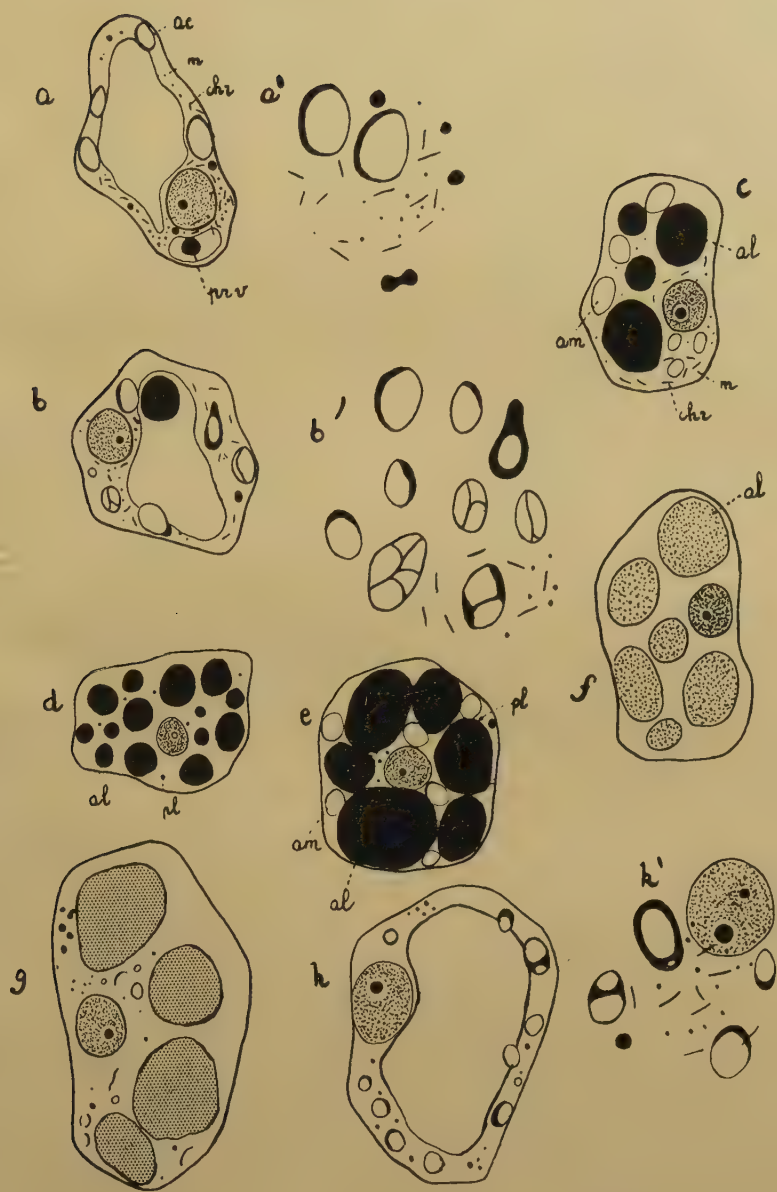


PLANCHE V

Dorycnium suffruticosum.

PLANCHE VI

SOJA HISPIDA

Fig. a, b, c. — Trois cellules épidermiques de cotylédon d'embryon très jeune, plus âgé, presque mûr (coloration vitale au rouge neutre); évolution du vacuome ($\times 1.600$).

Fig. d, e, f, f'. — Cellule parenchymateuse aux mêmes stades (coloration vitale au rouge neutre); évolution du vacuome et du plastidome. Dans les fig. f et f', présence de précipités intra et extra-vacuolaires provoqués par le colorant vital ($\times 1.600$).

Fig. f''. — Plastés amyliifères, graine mûre (réactif iodo-ioduré) ($\times 3.200$).

Fig. g. — Cellule parenchymateuse de graine mûre gonflée dans l'eau (coloration vitale au rouge neutre); aleurone seul figuré ($\times 1.600$).

Fig. h. — Même cellule (observation vitale); plastidome et lipides seuls figurés ($\times 1.600$).

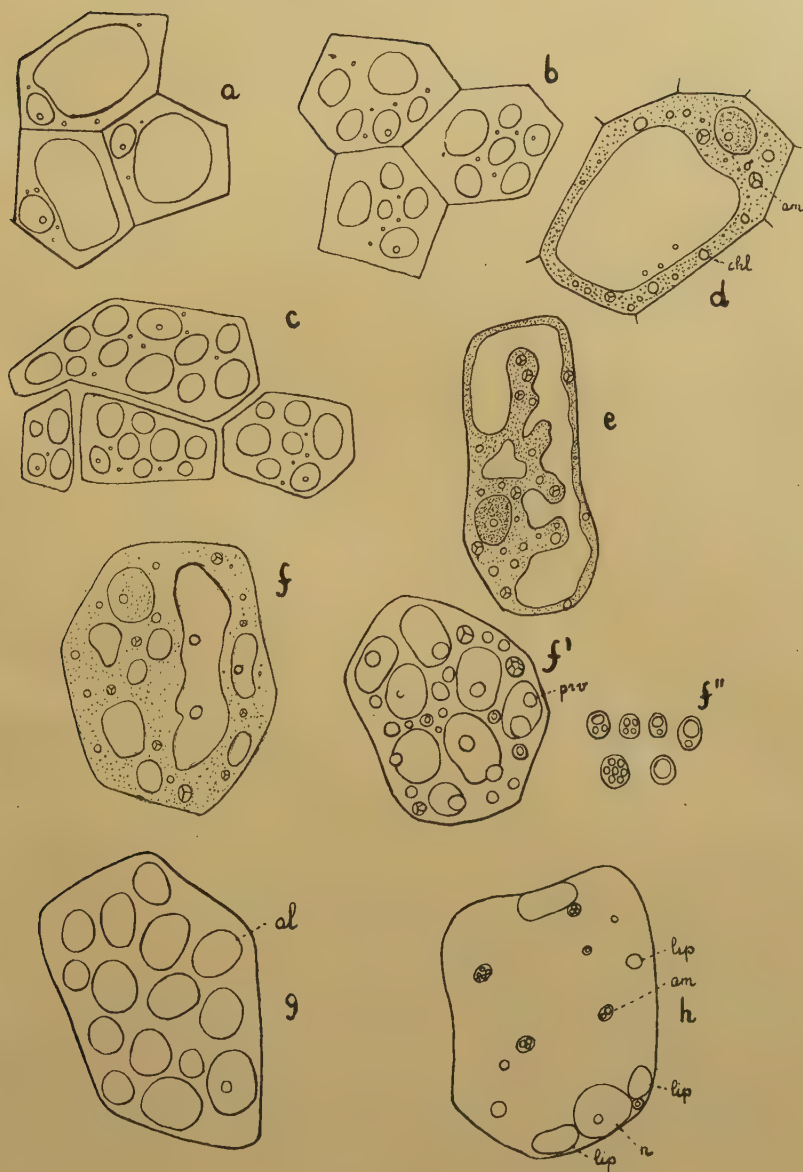


PLANCHE VI

Soja hispida.

PLANCHE VII

SOJA HISPIDA

- Fig. a, b, c, d. — Evolution du vacuome dans une cellule parenchymateuse après vingt-quatre heures (a), quarante-huit heures (b), soixante-douze heures (c), six jours (d) de germination (coloration vitale au rouge neutre) ($\times 1.600$).
- Fig. e, f, g, h, i. — Evolution du plastidome pendant la germination dans une cellule parenchymateuse (réactif iodo-ioduré) ($\times 1.600$).
- Fig. e. — Vingt-quatre heures : peu de changement dans l'aspect du plastidome.
- Fig. f. — Soixante-douze heures : fragmentation des grains d'amidon avec dextrinisation; augmentation du volume du plaste.
- Fig. g. — Quatre-vingts heures : hydrolyse des grains de dextrine.
- Fig. h. — Six jours : nombreux petits plastes amylières (photosynthèse).
- Fig. i. — Neuf jours, photosynthèse en pleine activité : nombreux chloro et amylochloroplastes.
- Fig. j. — Cellule parenchymateuse de très jeune embryon (fixateur alcooliformo-mercurique) ($\times 1.600$).
- Fig. k. — Cellule parenchymateuse de cotylédon avant maturité (méthode de REGAUD); précipités chromophiles intra et extravacuolaires; chondriome et plastidome ($\times 1.700$).
- Fig. k'. — Son plastidome et son chondriome (méthode de REGAUD) ($\times 3.400$).
- Fig. l. — Cellule parenchymateuse avant maturité (fixateur de NAWASCHIN); vacuome seul figuré ($\times 1.600$).
- Fig. m. — Deux cellules parenchymateuses situées chacune dans un cotylédon de la même graine mûre (fixateur de BOUIN); fixation et coloration particulières. Le pointillé indique la place des épidermes internes ($\times 600$).
- Fig. n. — Cellule parenchymateuse de cotylédon après vingt-quatre heures de germination (méthode de REGAUD); aleurone, chondriome et plastidome figurés ($\times 1.700$).

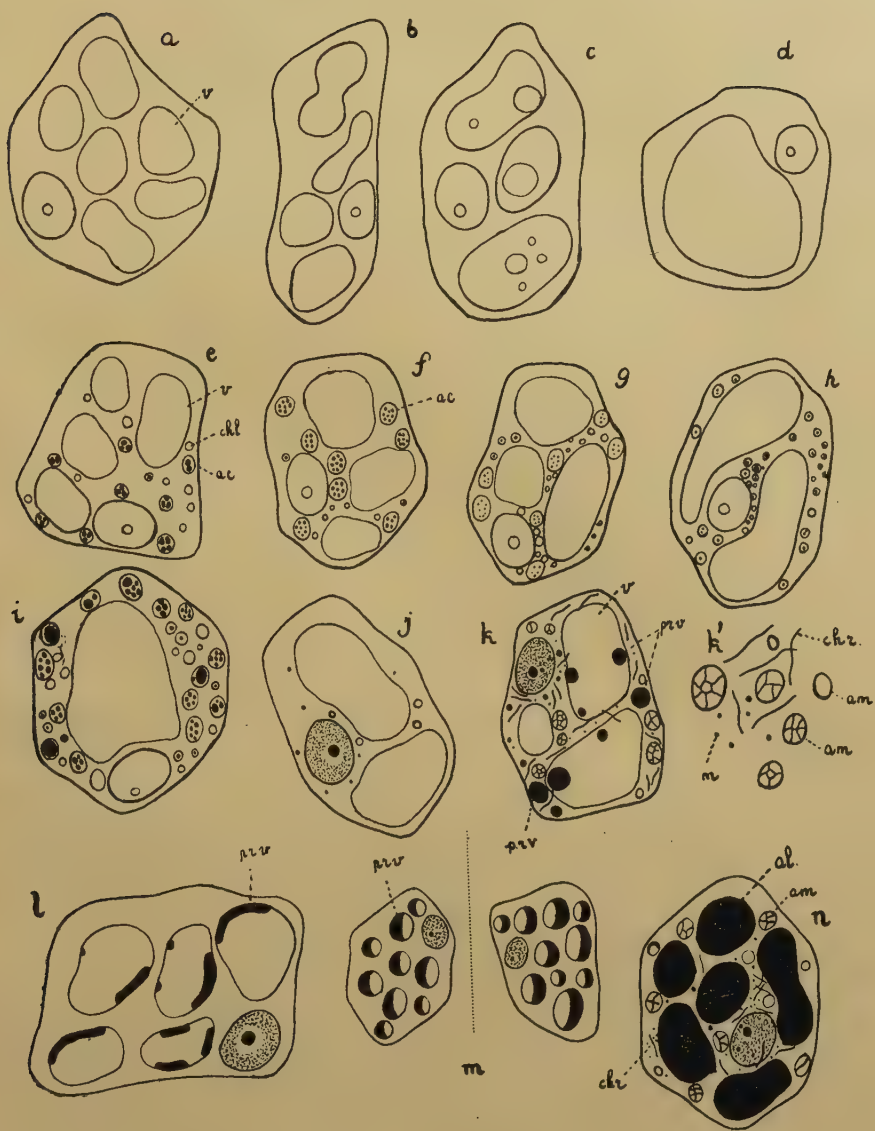


PLANCHE VII

Soja hispida.

PLANCHE VIII

CERCIS SILIQUASTRUM

- Fig. a. — Trois cellules parenchymateuses de cotylédon à peine formé, cependant déjà vert (observation vitale); petits chloroplastes, près des noyaux ($\times 1.600$).
- Fig. b. — Chondriome et plastidome, même stade (observation vitale) ($\times 2.400$).
- Fig. c. — Cellule d'albumen au même stade (observation vitale); abondant plastidome composé de leucoplastes, quelques-uns à inclusion, non colorables par le réactif iodo-ioduré. Quelques gouttelettes lipidiques; nombreux microsomes ($\times 1.600$).
- Fig. d, d'. — Cellules épidermiques externe et interne de jeune cotylédon (coloration vitale au rouge neutre). Présence, dans le vacuome, de cristaux d'oxalate de calcium ($\times 1.600$).
- Fig. e, e'. — Mêmes éléments à un stade plus évolué (coloration vitale au rouge neutre) ($\times 1.600$).
- Fig. f. — Cellule parenchymateuse cotylédonaire, même stade (observation vitale), précipité vacuolaire très fin ($\times 1.600$).
- Fig. g. — Même élément (coloration vitale au rouge neutre), précipités naturels et provoqués, certains extra-vacuolaires ($\times 1.600$).
- Fig. h. — Cellule épidermique interne de cotylédon mûr (coloration vitale au rouge neutre) ($\times 1.600$).
- Fig. i. — Cellule parenchymateuse, même stade, même coloration ($\times 1.600$).
- Fig. j. — Cellules de la région vasculaire de cotylédon, même stade, même coloration; aleurone seul figuré ($\times 1.600$).
- Fig. k. — Cellule parenchymateuse cotylédonaire après cinq jours de germination (coloration vitale au rouge neutre); précipité vacuolaire provoqué ($\times 1.600$).
- Fig. l. — Même cellule après huit jours de germination (coloration vitale au rouge neutre); absence de précipité vacuolaire ($\times 1.600$).

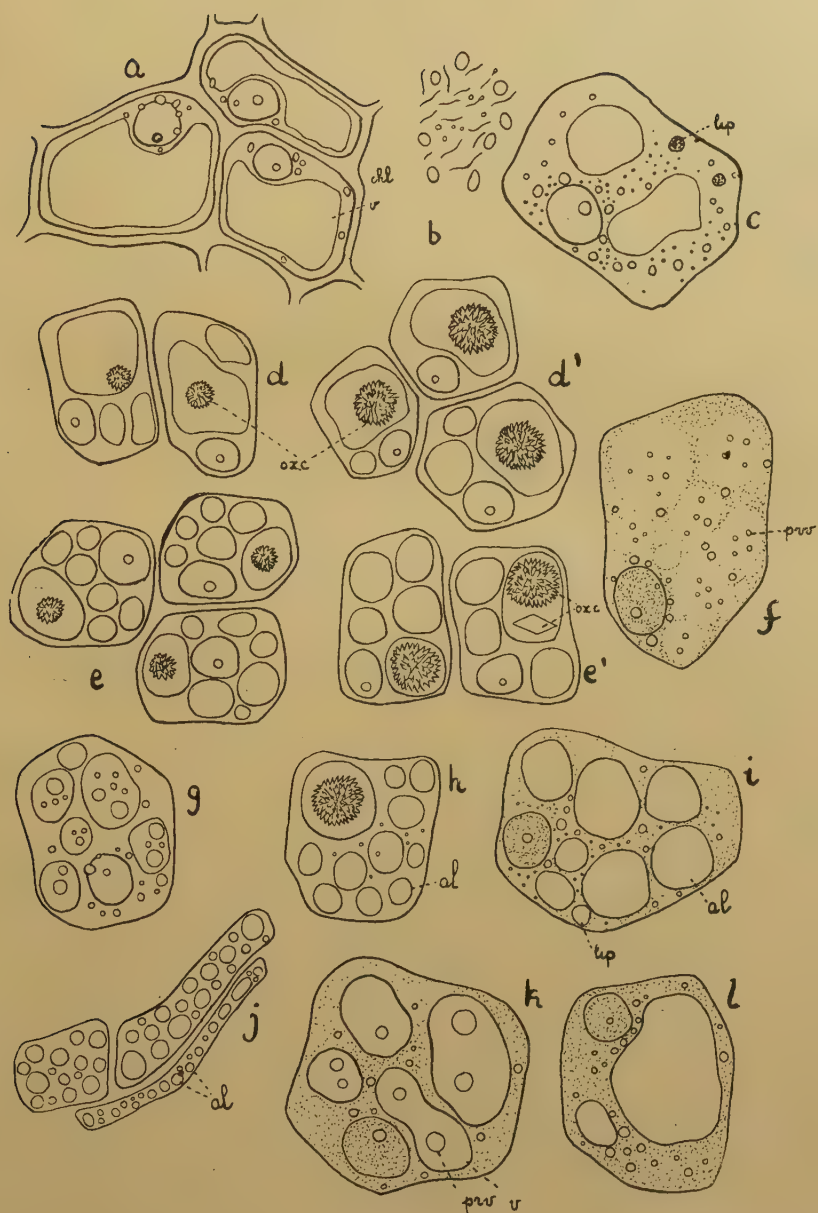


PLANCHE VIII

Cercis siliquastrum.

PLANCHE IX

CERCIS SILIQUASTRUM

- Fig. a. — Deux cellules épidermiques externes de cotylédon après dix jours de germination (coloration vitale au rouge neutre); présence, dans les vacuoles, de cristaux d'oxalate de chaux ($\times 1.600$).
- Fig. b. — Plastidome et chondriome de cellule parenchymateuse, même stade (observation vitale); quelques chloroplastes et rares amylochloroplastes : mitochondries granuleuses et en filaments ($\times 2.400$).
- Fig. c. — Cellule épidermique interne de jeune cotylédon (méthode de REGAUD); l'emplacement du macle, dans la vacuole, est marqué par sa non chromophilie ($\times 1.600$).
- Fig. d. — Deux cellules épidermiques internes à un stade plus avancé (méthode de REGAUD); remarquer la chromophilie peu accentuée de la vacuole à oxalate par rapport aux autres vacuoles aleuriques ($\times 1.600$).
- Fig. e. — Cinq cellules parenchymateuses de cotylédon à peine formé (méthode de REGAUD); nette observation des éléments figurés du cytoplasme ($\times 1.600$).
- Fig. e'. — Même stade, éléments figurés du cytoplasme : plastes et mitochondries-chondriosomes à inclusion chromophile ou non; à ce stade, absence totale d'amidon ($\times 3.600$).
- Fig. f. — Cellule parenchymateuse de cotylédon à un stade plus avancé (méthode de REGAUD); plastidome et chondriome nettement différenciés ($\times 1.600$).
- Fig. g. — Cellule parenchymateuse de cotylédon de graine mûre (méthode de REGAUD); aleurone et plastidome seuls figurés ($\times 1.600$).
- Fig. h, i. — Cellule parenchymateuse après six heures et cinq jours de germination (méthode de REGAUD) ($\times 1.600$).
- Fig. j. — Cellule épidermique externe de cotylédon après cinq jours de germination (méthode de REGAUD) ($\times 1.600$).
- Fig. k, l, m. — Cellules vasculaires de cotylédon à des stades de plus en plus avancés de germination (méthode de REGAUD) ($\times 1.600$).

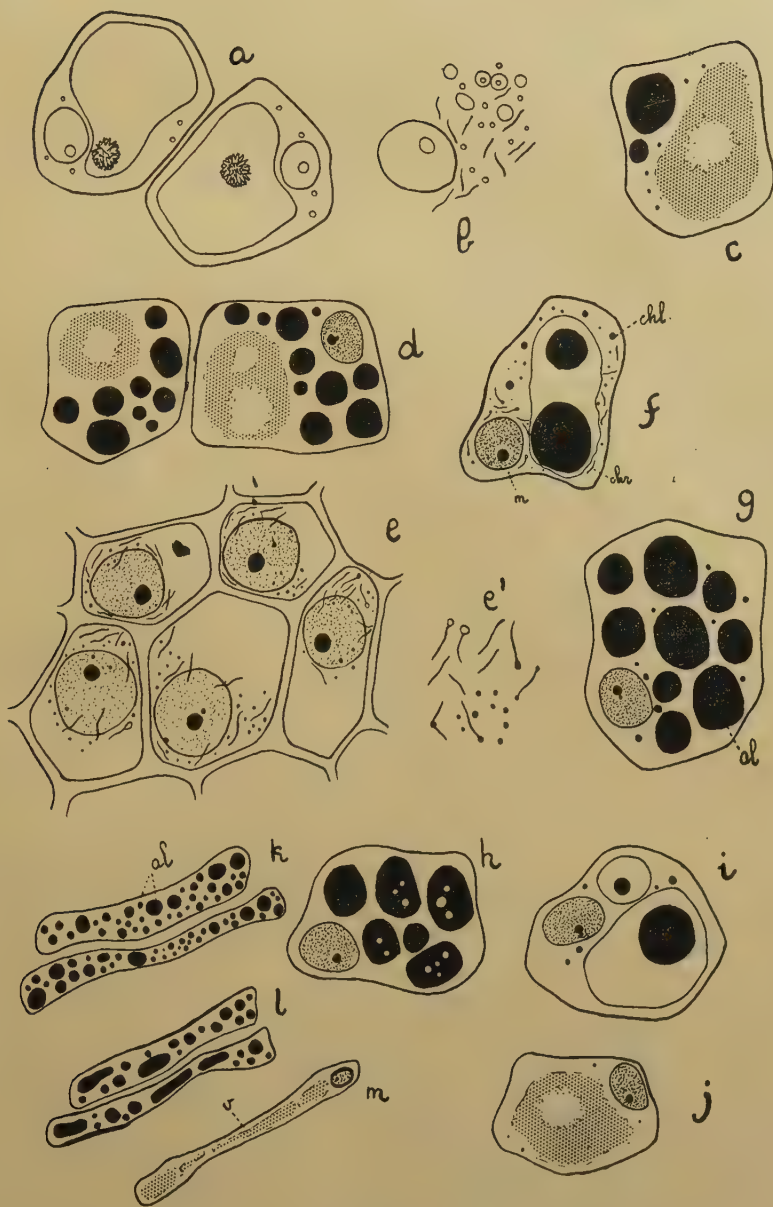


PLANCHE IX
Cercis siliquastrum.

PLANCHE X

ACACIA DEALBATA

- Fig. a. — Cellule parenchymateuse cotylédonaire de très jeune embryon non encore chlorophyllien. Présence de leucoplastes (observation vitale) ($\times 1.600$).
- Fig. b. — Deux cellules épidermiques de cotylédon chlorophyllien (coloration vitale au rouge neutre) ($\times 1.600$).
- Fig. c. — Même stade : cellule profonde (coloration vitale au rouge neutre) ($\times 1.600$).
- Fig. c'. — Son plastidome et son chondriome ($\times 3.200$). Plastés amylières, dextrinifères, mitochondries, chondriosomes.
- Fig. d. — Cellules parenchymateuses de cotylédon (réactif iodo-ioduré); plastés amylières et dextrinifères à inclusion incolore ($\times 1.600$).
- Fig. d'. — Les éléments du plastidome, même stade (réactif iodo-ioduré) ($\times 3.200$).
- Fig. e, f. — Cellules épidermiques et parenchymateuses, même stade (coloration vitale au rouge neutre); vacuome seul figuré ($\times 1.600$).
- Fig. g. — Cellule parenchymateuse peu avant maturité (coloration vitale au rouge neutre); présence de précipités vacuolaires dus à l'action du colorant vital. Nombreux amylochloroplastes ($\times 1.600$).
- Fig. h. — Deux cellules épidermiques externes de cotylédon de graine mûre (coloration vitale au rouge neutre) ($\times 1.600$).
- Fig. i. — Cellule sous-épidermique externe, même stade, même coloration ($\times 1.600$).
- Fig. j. — Cellule parenchymateuse, même stade (observation vitale); plastés, aleurone, lipides ($\times 1.600$).
- Fig. j'. — Trois grains d'amidon à hile étoilé, observés dans une cellule parenchymateuse de graine mûre ($\times 3.600$).
- Fig. k. — Cellule parenchymateuse de cotylédon après vingt-quatre heures de germination (coloration vitale au rouge neutre). Nombreux chloroplastes tous devenus amylières ($\times 1.600$).
- Fig. l. — Cellule sous-épidermique de cotylédon, même stade et même coloration. Observation de quelques plastés amylières ($\times 1.600$).
- Fig. m. — Cellule parenchymateuse de cotylédon après quarante-huit heures de germination (observation vitale) ($\times 1.600$).
- Fig. m'. — Amylochloroplastes, même stade ($\times 3.600$).

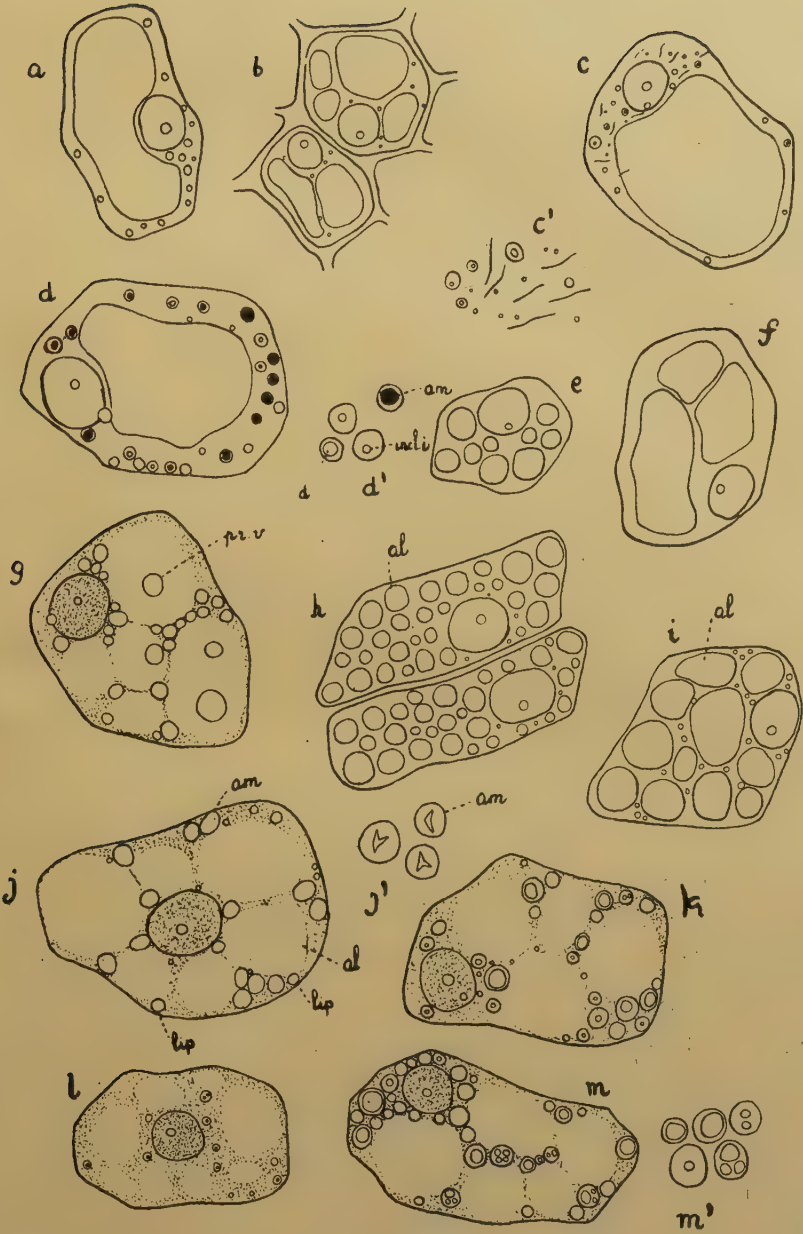


PLANCHE X
Acacia dealbata.

PLANCHE XI

ACACIA DEALBATA

- Fig. a. — Deux cellules épidermiques externes après soixante-douze heures de germination (coloration vitale au rouge neutre) ($\times 1.600$).
- Fig. b. — Cellure mère de cellules stomatiques, même stade, même coloration ($\times 1.600$).
- Fig. c. — Cellule épidermique externe de cotylédon après quatre jours de germination (observation vitale); vacuome coloré en rose violacé par le pigment anthocyannique ($\times 1.600$).
- Fig. d. — Cellule parenchymateuse, même stade (observation vitale); nombreux chloro et amylochloroplastes ($\times 1.600$).
- Fig. e. — Trois cellules parenchymateuses de très jeune embryon (méthode de REGAUD), vacuome, plastidome, chondriome ($\times 1.600$).
- Fig. e'. — Plastidome et chondriome près du noyau, même stade (méthode de REGAUD), vacuome, plastidome, chondriome ($\times 1.600$).
- Fig. f. — Cellule parenchymateuse d'embryon plus âgé (méthode de REGAUD), vacuome, plastidome, chondriome ($\times 1.600$).
- Fig. f'. — Plastidome et chondriome, même stade (méthode de REGAUD) ($\times 2.400$).
- Fig. g. — Cellule parenchymateuse d'embryon peu avant maturité (méthode de REGAUD); précipités intra et extravacuolaires chromophiles. Grains d'amidon à stroma protéique inexistant ou réduit à une mince calotte ($\times 1.600$).
- Fig. h. — Cellule parenchymateuse de cotylédon mûr (méthode de REGAUD); aleurone peu chromophile. Grains d'amidon à stroma protéique non visible ($\times 1.600$).
- Fig. i. — Cellule sous-épidermique externe de cotylédon après dix heures de germination (méthode de REGAUD); vacuome seul figuré ($\times 1.600$).
- Fig. j. — Cellule parenchymateuse de cotylédon après six jours de germination (méthode de REGAUD); précipités vacuolaires chromophiles, plastidome abondant ($\times 1.600$).
- Fig. j'. — Plastidome et chondriome au même stade (méthode de REGAUD); nombreux grains d'amidon simples et composés, de photosynthèse. Quelques chloroplastes, mitochondries granuleuses et en filaments ($\times 2.400$).

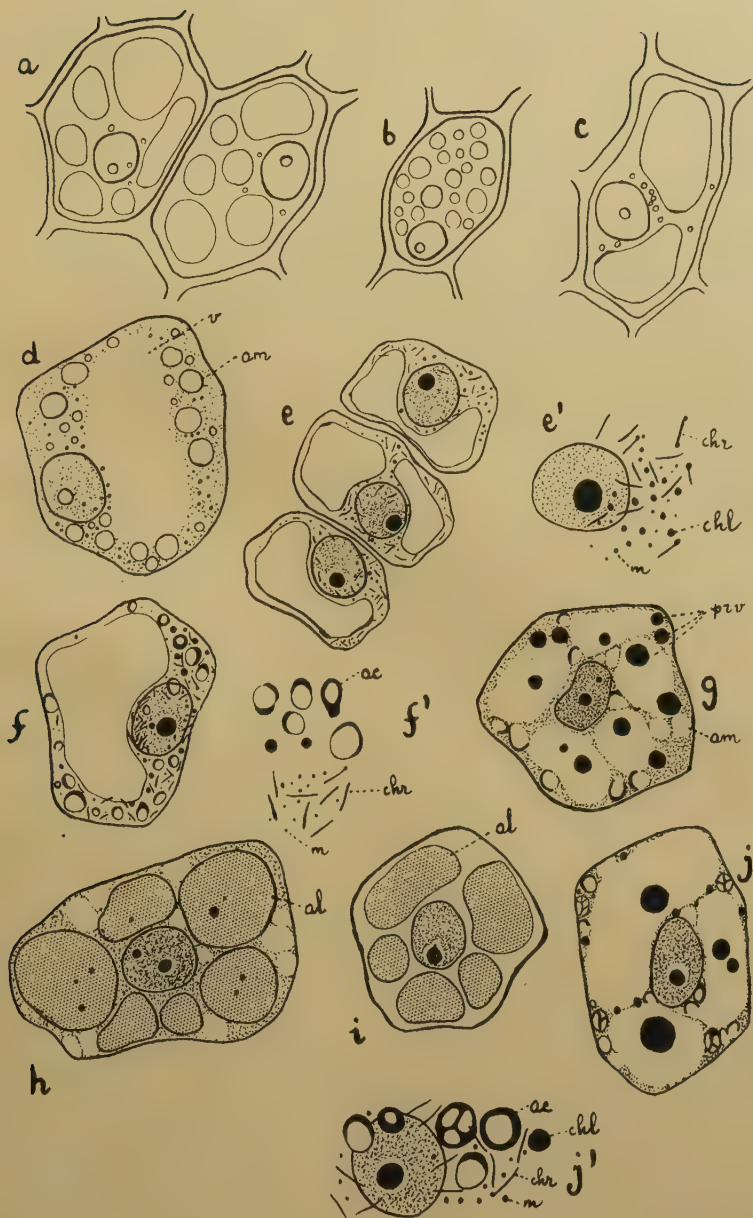


PLANCHE XI
Acacia dealbata.

PLANCHE XII

ALBIZZIA JULIBRISSIN

- Fig. a. — Trois cellules parenchymateuses de cotylédon d'un très jeune embryon de 0,5 mm. de long (observation vitale); les plastes y sont incolores mais, déjà, élaborent de l'amidon ou une matière glucidique de polymérisation inférieure ($\times 1.600$).
- Fig. b. — Cellule parenchymateuse de cotylédon de jeune embryon (0,8 mm. de long) (réactif iodo-ioduré); les plastes chlorophylliens contiennent des inclusions se colorant en bleu noir et en brun acajou par le réactif, d'autres non colorables ($\times 1.600$).
- Fig. b'. — Chloroplaste à inclusion non colorable par le réactif iodo-ioduré ($\times 3.400$).
- Fig. c. — Cellule profonde d'albumen, même stade (coloration vitale au rouge neutre); auréole périnucléolaire très visible sur le vivant ($\times 3.600$).
- Fig. d, h. — Cellules épidermiques externes de cotylédon à deux stades différents de maturation (coloration vitale au rouge neutre) ($\times 1.600$).
- Fig. e, g. — Cellule parenchymateuse de cotylédon aux mêmes stades (coloration vitale au rouge neutre); les vacuoles se divisent sans précipitations internes ($\times 1.600$).
- Fig. f. — Noyau d'une cellule parenchymateuse (stade e) accompagné d'éléments du plastidome et du chondriome (observation vitale) ($\times 2.400$).
- Fig. i, j. — Cellules épidermiques externes et interne de cotylédon mûr (coloration vitale au rouge neutre) ($\times 1.600$).
- Fig. k. — Cellule mère de cellules stomatiques dans épiderme interne de cotylédon, même stade (coloration au rouge neutre) ($\times 1.600$).
- Fig. l. — Cellule parenchymateuse de cotylédon de graine mûre (coloration vitale au rouge neutre); aleurone, plastidome et lipides figurés ($\times 1.600$).

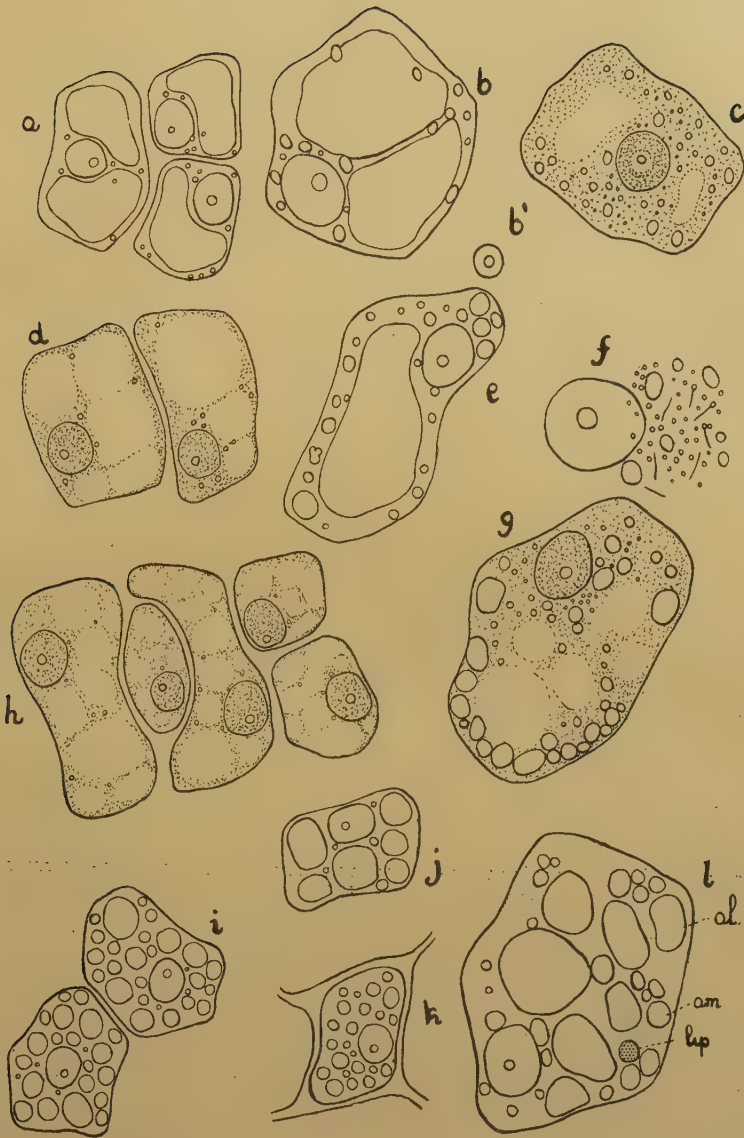


PLANCHE XII
Albizzia Julibrissin.

PLANCHE XIII

ALBIZZIA JULIBRISSIN

- Fig. a, b. — Cellule épidermique externe de cotylédon après vingt-quatre heures et quarante-huit heures de germination (coloration vitale au rouge neutre) ($\times 1.600$).
- Fig. a', b'. — Mêmes stades (réactif iodo-ioduré), précipités vacuolaires ($\times 1.600$).
- Fig. c. — Cellule parenchymateuse de cotylédon après quarante-huit heures de germination (coloration vitale au rouge neutre); vacuome et plastidome seuls figurés ($\times 1.600$).
- Fig. d. — Cellule épidermique externe de cotylédon après trois jours de germination (réactif iodo-ioduré); vacuome seul figuré, absence de précipité vacuolaire ($\times 1.600$).
- Fig. e. — Cellule parenchymateuse de cotylédon après trois jours de germination (réactif iodo-ioduré) ($\times 1.600$).
- Fig. f. — Cellule du parenchyme palissadique de cotylédon après six jours de germination (réactif iodo-ioduré); vacuome et plastidome seuls figurés ($\times 1.600$).
- Fig. g. — Même cellule après huit jours de germination (réactif iodo-ioduré), remarquer le grand développement de l'écorce plastidiale des grains d'amidon ($\times 1.600$).
- Fig. g'. — Chondriome et plastidome de la même cellule (observation vitale) ($\times 2.400$).
- Fig. h. — Cellule profonde de cotylédon après huit jours de germination (observation vitale) ($\times 1.600$).
- Fig. i. — Plastidome et chondriome d'une cellule de cotylédon avant maturité (méthode de REGAUD) ($\times 2.400$).
- Fig. j. — Cellule parenchymateuse de cotylédon de graine mûre (méthode de REGAUD) ($\times 1.600$).
- Fig. k. — Deux cellules épidermiques externes de cotylédon de graine mûre (méthode de REGAUD) ($\times 1.600$).
- Fig. l. — Cellule de parenchyme palissadique de cotylédon après deux jours de germination (méthode de REGAUD) ($\times 1.600$).



PLANCHE XIII
Albizzia Julibrissin.

BIBLIOGRAPHIE

- AMAR (M.). — Sur le rôle de l'oxalate de calcium dans la nutrition des végétaux. Thèse doct. Sc. Nat., Paris, 1904.
- BAILLON (H.). — Dictionnaire de Botanique, Paris, 1875-1892.
- BEAUCHAMP (P. DE). — Les colorations vitales. *Année biologique*, Ext. 1906.
- BEAUVIERE (J.). — Contribution à l'étude des grains d'aleurone et particulièrement des globoïdes. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 1908.
- BECQUEREL (P.). — Recherches sur la vie latente des graines. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 1907, **5**, 193.
- BEILLE (L.). — Botanique Pharmaceutique, 2^e édit., Paris, 1935.
- BELVAL (H.). — La genèse de l'amidon chez les céréales. *Rev. gén. Bot.*, 1924, **36**, 308.
- BELZUNG (G.). — Recherches morphologiques et physiologiques sur l'amidon et les grains de chlorophylle. Thèse doct. Sc. Nat., Paris, 1887.
- Nouvelles recherches sur l'origine des grains d'amidon et des grains chlorophylliens. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 1891, **13**.
- Sur le développement de l'amidon. *Journ. Bot.*, 1891, 5.
- Remarques sur le verdissement. *Journ. Bot.*, 1891, 350.
- Marche totale des phénomènes amylochlorophylliens. *Journ. Bot.*, 1895, **9**, 32-72 et 181-189.
- BEYLOT (E. M.) & BAUDRIMONT (A.). — Manuel théorique et pratique d'Histologie. 3^e édit., Paris, 1932.
- BOHN (P. E.). — Le mécanisme de la synthèse des graisses aux dépens des glucides. *C. R. Ac. Sc.*, 1931, **193**, 441.
- BONNIER (G.). — Flore complète de France-Suisse et Belgique. Paris, 1929, **11**. (Revue par R. DOUIN.)
- BONNIER (G.), LECLERC DU SABLON & CERIGHELLI (R.). — Cours de Botanique (nouveau tirage), Paris, 1936.
- BOULANGER. — Guide pour les manipulations de chimie biologique. 1 volume, Taffin-Leffort, édit., Paris, 1936.
- COLIN (H.) & BELVAL (H.). — Sur les prétendues dextrines de réserve des monocotylédones. *C. R. Ac. Sc.*, 1923, **176**, 1493.

- COLIN (H.) & FRANQUET (R.). — La genèse de l'amidon dans la Pomme de terre. *Bull. Soc. Bot. fr.*, 1927, **74**, 451-458.
- La genèse de l'amidon dans le Haricot. *C. R. Ac. Sc.*, 1928, **187**, 309.
- COLIN (Y.). — Recherches techniques sur la séparation et le dosage des principes immédiats phosphorés des graines; variations de ces composés au cours de la maturation et de la germination. Thèse doct. Sc. Nat., Paris, 1935.
- COMBES (R.). — Recherches chimiques sur les pigments anthocyaniques. *C. R. Ass. fr. avanc. Sc.*, Dijon, 1911.
- La vie de la cellule végétale. A. Colin, Paris, 1927.
- La formation et la localisation des réserves chez les végétaux producteurs d'huile. *Oléagineux fr.*, décembre 1946, **1**, 183-188.
- COSTE (H.). — Flore descriptive et illustrée de la France. Paris, 1906, **3**.
- COUPIN (H.). — Technique microscopique appliquée à l'étude des végétaux. Paris, 1909.
- CUGNAC (A. DE). — Recherches sur les Glucides des Graminées. Thèse doct. Sc. Nat., Paris, 1930.
- DANGEARD (P. A.). — La Métachromatine chez les Mucorinées. *Bull. Soc. Myco. fr.*, 1916, **32**, fasc. 1 et 2.
- La Métachromatine chez les Algues et les Champignons. *Bull. Soc. Bot. fr.*, 1916, **16**.
- Nouvelles observations sur la nature du chondriome dans les plantes, et ses rapports avec le système vacuolaire. *Bull. Soc. Bot. fr.*, 1916.
- Note sur les corpuscules métachromatiques des levûres. *Bull. Soc. Mycol. fr.*, 1916, **32**, fasc. 1 et 2.
- Sur la distinction du chondriome des auteurs en vacuome, plastidome et sphérome. *C. R. Ac. Sc.*, 1919, **169**, 1005.
- DANGEARD (P.). — L'évolution des grains d'aleurone en vacuoles ordinaires. *C. R. Ac. Sc.*, 1921, **172**, 995.
- L'évolution des grains d'aleurone en vacuoles ordinaires pendant la germination du Pin Maritime. *Bull. Soc. Bot. fr.*, 1921, **21**, 223-230.
- Sur la formation des grains d'aleurone dans l'albumen du Ricin. *C. R. Ac. Sc.*, 1921, **173**, 857.
- Sur l'évolution des grains d'aleurone du Ricin pendant la germination. *C. R. Ac. Sc.*, 1921, **173**, 1401.
- Sur l'origine des vacuoles aux dépens de l'aleurone pendant la germination des Graminées. *C. R. Ac. Sc.*, 1922, **174**, 319.
- Recherches de biologie cellulaire. *Le Botaniste*, 1923, **15**, 1-267.
- Les plastes et les chondriosomes dans l'albumen du Ricin. Mélanges scientifiques offerts à M. L. PICARD, édit. Delmas, 1938, Bordeaux.
- Sur le pouvoir d'accumulation des colorants vitaux par les cellules vivantes. *C. R. Soc. Biol.*, 1941, **135**, 575-577.
- L'origine des grains d'aleurone chez quelques Légumineuses. *C. R. Ac. Sc.*, 1944, **219**, 492-494.

- DANGEARD (P.). — Sur la présence d'amidon et d'amyloplastés dans les points de végétation de la tige des Phanérogames et sur l'évolution des chloroplastes. *C. R. Soc. Biol.*, 1945, **139**, 345-347.
- Recherches sur l'aleurone et les constituants cytoplasmiques des graines de Légumineuses. *Le Botaniste*, 1947, **33**, 59-95.
- Traité de Cytologie générale et de Cytologie végétale : Encyclopédie biologique, 26^e édit., P. Lechevalier, 1947.
- DESPUJOLS (J.). — Recherches expérimentales sur les protéides du Soumpe (*Balanites aegyptiaca*). Thèse Pharmacie d'Univ. Bordeaux, 1944.
- DOP (P.) & GAUTIER (A.). — Manuel de technique botanique. Paris, 1928, 2^e édit.
- ECHEVIN & BRUNEL (A.). — Métabolisme azoté au cours de la germination du Lupin. *C. R. Ac. Sc.*, 1937, **204**, 881.
- EMBERGER (L.). — Evolution des plastides dans le règne végétal. *Rev. Sc.*, 28 janvier 1922, n° 2.
- FLEURY. — Recherches chimiques sur la germination. *Ann. de Chimie et Phys.*, 1865.
- FRANQUET (R.). — Genèse de l'amidon dans quelques plantes à réserves amylacées. Thèse doct. Sc. Nat., Paris, 1932.
- GERBER (C.). — Etude de la transformation des matières sucrées en huile dans les olives. *C. R. Ac. Sc.*, 1897, **125**, 658.
- Recherches sur la formation des réserves oléagineuses des graines et des fruits. *Ibid.*, 1898, **125**, 732.
- GODFRIN (J.). — Anatomie comparée des cotylédons et de l'albumen. *Ann. Sc. Nat.*, 1884, **19**, 38.
- GOLDBERG (M. J.). — Sur la formation des matières protéiques pendant la germination du blé à l'obscurité. *Rev. gén. Bot.*, 1899, **11**, 337.
- GRIS (A.). — Recherches sur la germination. *Ann. Sc. Nat.*, 1864, **2**, 5, 5^e sér.
- GUILLIERMOND (A.). — Recherches cytologiques sur la germination des graines de Graminées et contribution à l'étude des grains d'aleurone. *Arch. Anat. micros.*, 1908, **10**, 9-43.
- Sur les microsomes et les formations lipoïdes de la cellule végétale. *C. R. Ac. Sc.*, 1921, **172**, 167-168.
- Recherches sur la cytologie de l'albumen du Ricin, origine et évolution des grains d'aleurone. *C. R. Ass. fr. avanc. Sc.*, Rouen, 1921.
- Origine et évolution des vacuoles dans la cellule végétale et grains d'aleurone. *C. R. Soc. Biol.*, 1921, **85**, 1033.
- GUILLIERMOND (A.), MANGENOT (G.) & PLANTEFOL (L.). — Traité de Cytologie végétale, Paris, 1933.
- HABERLANDT (G.). — Die Soja bohne. Wien, 1878.
- HEUMANN (W.). — Ueber den Fettstoffwechsel Keimender. *Kurbissamen Planta*, 1944, **34**, n° 1, 1-16.
- HOUGET (J.). — Sur la formation des glucides au cours de la germination du Ricin. *C. R. Ac. Sc.*, 1942, **215**, 387-388.

- HOUTTE (VAN). — Flore des serres et des jardins de l'Europe. *Journal général d'agriculture*, Gand, 1845-1880.
- HUREL-PY (G.). — Sur les vacuoles des cellules à raphides. *C. R. Ac. Sc.*, 1942, **215**, 31-33.
- JONES (W. W.) & SHAW (L.). — The Process of oil formation and accumulation in the Madacamia. *Plant. Physiol.*, 1943, **18**, 1-7.
- JONESCO (S.). — Formation des pigments anthocyaniques dans les plantules étiolées de Sarrazin et de Blé. *C. R. Ac. Sc.*, 1931, **192**, 438.
- LANGERON (M.). — Précis de Microscopie, 6^e édit., Paris, 1942.
- LECLERC DU SABLON (M.). — Recherches sur la germination des graines oléagineuses. *Rev. gén. Bot.*, 1895, **7**, 145.
- Sur la digestion des albumens gélatineux. *Rev. gén. Bot.*, 1895, **7**, 401.
- Sur les réserves oléagineuses de la noix. *Rev. gén. Bot.*, 1897, **9**, 315.
- Sur la germination des amandes. *Rev. gén. Bot.*, 1897, **9**, 1.
- LEMARCHAND (J.). — Contribution à l'étude des transformations et plus spécialement de la saponification des réserves grasses dans les graines oléagineuses au cours de la germination. Thèse doct. Sc. Nat., Lyon, 1929.
- LI-KOUE-TCHANG. — Sur quelques particularités de l'évolution des plastes pendant la germination des graines de Légumineuses. *Bull. Soc. Bot. fr.*, 1924, **24**, 656-666.
- LUCA (S. DE). — Recherches sur la formation de la matière grasse dans l'olive. *C. R. Ac. Sc.*, 1861, **53**, 380; *Ibid.*, 1862, **55**, 470 et 506.
- LÜDTKE (F.). — Beiträge zur Kenntniss der Aleuronkörner. *Jahrb. f. wiss. Botan.*, Bd. XXI, pp. 62-123.
- MAIGE (A.). — Evolution et verdissement des plastes dans les cellules cotylédonaire de diverses Légumineuses, pendant la germination. *C. R. Ac. Sc.*, 1925, **180**, 855.
- Observations sur l'amylogénèse dans les cotylédons du Pois. *C. R. Ac. Sc.*, 1926, **183**, 669.
- Observations sur la digestion de l'amidon dans les cellules cotylédonaire de diverses Légumineuses. *C. R. Soc. Biol.*, 1926, **94**, 697.
- Observations sur la déchéance physiologique des plastes amylofères dans les cotylédons des Légumineuses. *C. R. Ac. Sc.*, 1927, **184**, 162.
- Amylogénèse et amyolyse dans les cellules végétales. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1928, **10**, 422.
- Nouvelles observations sur l'évolution des plastes amylogènes dans les cellules à réserves d'amidon. *C. R. Ac. Sc.*, 1935, **200**, 1618.
- MALVESIN-FABRE (G.). — Contribution à la caryologie des Aracées. Thèse doct. Sc. Nat., Bordeaux, 1945.
- MAQUENNE (L.). — Sur les changements de composition qu'éprouvent les graines oléagineuses au cours de la germination. *C. R. Ac. Sc.*, 1898, **127**, 625.

- MAZÉ (P.). — Sur les transformations des matières grasses en sucres dans les graines oléagineuses en voie de germination. *C. R. Ac. Sc.*, 1902, **134**, 309.
- MENOZZI (A.). — Ricerche chimiche sulla germinazione del *Phascolus vulgaris*. *Acad. dei Lincei Rend., Roma*, 4, p. 149.
- MESNARD (E.). — Sur les transformations que subissent les substances de réserve pendant la germination des graines. *Bull. Soc. Bot. fr.*, 1893, **40**, 35.
- Recherches sur la formation des huiles grasses et des huiles essentielles chez les végétaux. Thèse doct. Sc. Nat., Paris, 1894.
- MICHEL-DURAND (E.). — Variations des substances hydrocarbonées dans les feuilles. Thèse doct. Sc. Nat., Paris, 1918.
- MIRANDE (M.). — Observation sur le mode de formation cytologique de l'anthocyane. *C. R. Ac. Sc.*, 1916, **163**, 368.
- MOTTIER (D. M.). — Plastides. *Academie of Science Proceedings*, 1918.
- Chondriosomes and the primordia of chloroplasts and leucoplasts. *Ann. of Bot.*, 1918, pp. 98-114.
- On certain plastids with special reference to the protein bodies of *Zea*, *Ricinus* and *Conopholis*. *Ann. of Bot.*, 1921, **35**, 349-364.
- MUNTZ. — Sur la germination des graines oléagineuses. *Ann. de Chim. et Phys.*, 1871, 4^e sér., **22**, 472.
- NICHOLSON (G.). — Dictionnaire d'horticulture.
- NIHOUS (M.). — Repos apparent et repos réel des graines et semences. *C. R. Ac. Sc.*, 1941, **212**, 927.
- PERROT (E.). — La culture des plantes médicinales. *Presses Universitaires de France*, 1947.
- PFEFFER (W.). — Untersuchungen über die Proteinkörner und die Bedeutung des Asparagins beim keimen der Samen. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1872, **8**, 429-571.
- POBEGUIN (Th.). — Les oxalates de calcium chez quelques Angiospermes. Thèse doct. Sc. Nat., Paris, 1943.
- POLITIS (J.). — Sur des gènes produisant de l'anthocyane dans les plantules de *Raphanus sativus* et d'autres Crucifères. *C. R. Ac. Sc.*, 1947, **225**, 256-257.
- PREGL (F.). — La micro-analyse organique quantitative. Trad. G. Walter. *Les Presses Universitaires de France*, Paris, 1923.
- QUILICHINI (R.). — Les constituants cytoplasmiques de quelques graines de Légumineuses, et leur évolution pendant la germination. *C. R. Ac. Sc.*, 1948, **226**, 690-692.
- Sur les substances de réserve et leurs transformations pendant la germination chez quelques graines de Légumineuses. *C. R. Ac. Sc.*, 1948, **227**, 362-363.
- RADU (V.). — Etude cytophysiologique de la germination. Comportement de l'assise épithéliale du cotylédon de *Zea Maïs* pendant la germination à diverses températures. *Bull. Sc. Acad. Roumaine*, 1936-1937, **28**, 182-193. (Note résumée dans *Bull. Soc. Bot. fr.*, 1939, **86**, 233.)

- REILHES (R.). — Effet de la concentration de l'iode sur la coloration de l'amidon. *Rev. gén. Bot.*, 1931, **43**, 177.
- Actions expérimentales diverses sur les graines. Contribution à l'étude de l'importance des téguments. *Bull. Soc. Bot. fr.*, 1941, **88**, 613-621.
- RENDLE (A. B.). — On the development of aleurone grains in the Lupin. *Ann. of Bot.*, 1888, **2**, 161.
- REUTTER (L.). — Traité de Matière médicale et de Chimie végétale, Paris, 1923.
- ROUY (G.). — Flore de France, Paris, 1912-1913.
- SACHS (J.). — Ueber das Auftreten der Stärke bei der keimung ölhaltiger Samen. *Bot. Zeit.*, 1859, **17**, 177.
- Traité de physiologie végétale. Trad. de Marc Micheli. V. Masson, édit., Paris, 1868.
- Traité de botanique. Trad. de Van Tieghem. L. Savy, édit., Paris, 1874.
- SALMON (J.). — Recherches cytologiques sur la différenciation des tubes criblés chez les Angiospermes. Thèse doct. Sc. Nat., Paris, 1946, 235 pages dactylographiées.
- SHARP (L. W.). — Introduction to Cytologie. New-York, 2^e édit., 1934.
- SOMON (E.). — Observations sur les plastes amylières de Haricot, Cytise et Ricin au cours du développement de la graine et pendant sa germination. Thèse doct. Sc. Nat., Paris, 1945.
- SOUÈGES (R.). — Analyse micrographique. Paris, 2^e édit., 1932.
- VALLÉE (C.). — Sur la présence du saccharose dans les amandes et sur son rôle dans la formation de l'huile. *C. R. Ac. Sc.*, 1903, **136**, 114.
- VAN TIEGHEM (Ph.). — Recherches physiologiques sur la germination. *Ann. Sc. Nat.*, 1873, **17**, 205.
- Sur la digestion de l'albumen. *C. R. Ac. Sc.*, 1877, **84**, 578.
- Hydroleucites et grains d'aleurone. *Journ. de Bot.*, décembre 1888.
- VOHOULEN. — A microchemical study of soybeans during germination. *Amer. Journ. Bot.*, 1931, **18**, 30.
- VOUK (V.). — Ueber den plastidogenen Ursprung der Aleuronkörner. *Acta bot. Inst. Bot. Univ. Zagreb*, 1925, **1**, 37-43.
- VRIES (H. DE). — Plasmolitische Studien über die Wand der Vakuolen. *Jahr. f. wiss. Bot.*, 1885, **16**, 465.
- WAKKER (J. H.). — Studien über die inhaltskörper der Pflanzenzellen. *Jahr. f. wiss. Bot.*, 1888, **6**, 199.
- WERMINSKI (F.). — Ueber die Natur der Aleuronkörner. *Ber. d. Deutsch. bot. Gesell.* Bd. VI, pp. 199-203.
- WIELER (A.). — Die Feinere bau der aleuronkörner und ihre Entstehung. *Protoplasma*, 1943, **38**, 21-63.
-

TABLE DES FIGURES DANS LE TEXTE

Répartition de l'amidon dans une coupe transversale de cotylédon d' <i>Acacia dealbata</i> , après une germination de :	
— 6 jours	96
— 9 jours	97
— 13 jours	97
Evolution du plastidome pendant la germination. Parenchyme cotylédonaire d' <i>Albizzia Julibrissin</i> . Action du réactif iodo-ioduré	103
Action du réactif iodo-ioduré sur un grain d'amidon composé d' <i>Albizzia Julibrissin</i>	104
Aspect général du plastidome cotylédonaire dans une plantule de neuf jours. <i>Albizzia Julibrissin</i>	105
Schéma de l'appareil utilisé pour le dosage des matières organiques azotées	120
Courbe d'extraction des lipides à l'aide de l'alcool bouillant, en fonction du temps, dans une graine mûre de <i>Dorycnium suffruticosum</i>	127
Courbe d'extraction totale des lipides à l'aide de l'éther sulfurique, en fonction du temps, dans une graine mûre de <i>Dorycnium suffruticosum</i>	128

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	1
INTRODUCTION	3

PREMIÈRE PARTIE

Etude cytologique	5
HISTORIQUE	7
Aleurone	7
Plastidome et chondriome	13
Amylogenèse et amylolyse	15
Huile	16
TECHNIQUE	17
Techniques extemporanées vitales et postvitales	17
Technique des fixations suivies de colorations	19
Recherches personnelles	25
CHAPITRE PREMIER. — MATURATIONS	27
<i>Cytisus alpinus</i>	27
<i>Dorycnium suffruticosum</i>	33
<i>Soja hispida</i>	39
<i>Cercis siliquastrum</i>	46
<i>Acacia dealbata</i>	53
<i>Albizzia Julibrissin</i>	60
CHAPITRE II. — GERMINATIONS	67
<i>Cytisus alpinus</i>	67
<i>Dorycnium suffruticosum</i>	72
<i>Soja hispida</i>	77
<i>Cercis siliquastrum</i>	85
<i>Acacia dealbata</i>	91
<i>Albizzia Julibrissin</i>	99

DEUXIÈME PARTIE

Etude chimique	107
HISTORIQUE	109

TECHNIQUE	115
I. — Dosage de la matière sèche	115
II. — Dosage des lipides	115
III. — Dosage des glucides	117
IV. — Dosage des matières organiques azotées	118
Recherches personnelles	123
CHAPITRE PREMIER. — LIPIDES	125
Choix du solvant	125
Evolution des lipides pendant la maturation des graines....	129
Evolution des lipides pendant la germination	131
CHAPITRE II. — GLUCIDES	133
Evolution des glucides pendant la formation des graines..	133
Evolution des glucides pendant la germination des graines..	135
CHAPITRE III. — MATIÈRES ORGANIQUES AZOTÉES	137
Evolution des matières organiques azotées pendant la maturation des graines	137
Evolution des matières organiques azotées pendant la germination des graines	138
 TROISIÈME PARTIE	
Conclusions générales	141
Aleurone	143
Chondriome	147
Plastidome	148
Amidon. — Amylogenèse. — Amylolyse	149
Rapports de l'huile et des sucres	150
 PLANCHES HORS-TEXTE	 153
 BIBLIOGRAPHIE	 183
 TABLE DES FIGURES DANS LE TEXTE	 189

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ :

ORIGINE ET RÔLE DES ALCALOÏDES CHEZ LES VÉGÉTAUX

Vu, bon à imprimer :

Le Président,

P. DANGEARD.

Vu et approuvé :

Le Doyen,

G. BRUS.

Vu et permis d'imprimer :

Bordeaux, le 11 Avril 1949.

Le Recteur,

A. MARCHAUD.

